

PATENT ABSTRACTS OF JAPAN

(11)Publication number : 09-184837

(43)Date of publication of application : 15.07.1997

(51)Int.Cl.

G01N 31/22
G01N 21/78
G01N 33/52

(21)Application number : 08-279661

(71)Applicant : KDK CORP

(22)Date of filing : 22.10.1996

(72)Inventor : KATAYAMA ATSUKO
FUKUOKA TAKAO
YONEHARA SATOSHI

(30)Priority

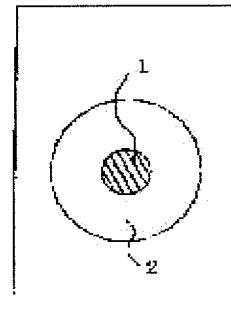
Priority number : 07282148 Priority date : 30.10.1995 Priority country : JP

(54) TESTPIECE

(57)Abstract:

PROBLEM TO BE SOLVED: To suppress the diffusion and eluation of dye and to make it possible to accurately inspect and analyze it by mixing layer inorganic compound with the detector for measuring the dye generated in reaction of substance to be analyzed with reagent.

SOLUTION: POD (peroxidase), 4-AA and N-ethyl-(2-hydroxy-3-sulfopropyl)-3,5-dimethoxyaniline (EHSDA) as dye precursor and bis-trisbuffer as buffer (pH of 6.5) are taken, and hydrogen peroxide is added to obtain coloring liquid. 30 μ L of the obtained liquid is immersed in 1% dispersant of layer inorganic compound (synthetic smectite, spot adsorbed to dried filter sheet and untreated filter sheet, and the state off the diffusion is observed. The maximum and minimum parts of the diameter are measured, and the area of the spot 1 in which the dye is diffused is obtained from the average.



LEGAL STATUS

[Date of request for examination] 26.07.2001

[Date of sending the examiner's decision of rejection]

[Kind of final disposal of application other than the examiner's decision of rejection or application converted registration]

[Date of final disposal for application]

[Patent number] 3446796

[Date of registration] 04.07.2003

[Number of appeal against examiner's decision
of rejection]

[Date of requesting appeal against examiner's
decision of rejection]

[Date of extinction of right]

A/E

(19)日本国特許庁 (JP)

(12) 公開特許公報 (A)

(11)特許出願公開番号

特開平9-184837

(43)公開日 平成9年(1997)7月15日

(51) Int.Cl. ⁶	識別記号	序内整理番号	F I	技術表示箇所
G 01 N 31/22	1 2 1		G 01 N 31/22	1 2 1 F 1 2 1 G
21/78			21/78	B
33/52			33/52	B

審査請求 未請求 請求項の数21 O.L (全 21 頁)

(21)出願番号 特願平8-279661
 (22)出願日 平成8年(1996)10月22日
 (31)優先権主張番号 特願平7-282148
 (32)優先日 平7(1995)10月30日
 (33)優先権主張国 日本 (JP)

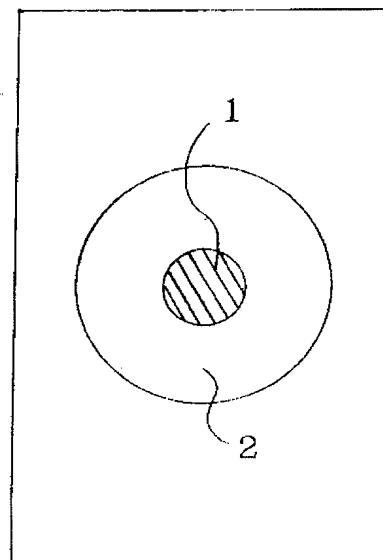
(71)出願人 000141897
 株式会社京都第一科学
 京都府京都市南区東九条西明田町57番地
 (72)発明者 片山 敦子
 京都府京都市南区東九条西明田町57番地株
 式会社京都第一科学内
 (72)発明者 福岡 隆夫
 京都府京都市南区東九条西明田町57番地株
 式会社京都第一科学内
 (72)発明者 米原 聰
 京都府京都市南区東九条西明田町57番地株
 式会社京都第一科学内
 (74)代理人 弁理士 遠山 勉 (外2名)

(54)【発明の名称】 試験片

(57)【要約】

【課題】 色素等の拡散・溶出を抑制し、正確な検査・分析を可能にする分析用試験片を提供することである。

【解決手段】 試料中の分析対象物質と試薬とが反応して生成する検出可能な物質を測定することにより前記分析対象物質を測定するための分析用試験片において、前記検出可能な物質を検出するための検出部を有する試験部を1以上設け、前記検出部に層状無機化合物（合成スメクタイト等）を含有させる。



【特許請求の範囲】

【請求項1】 試料中の分析対象物質と試薬とが反応して生成する検出可能な物質を測定することにより前記分析対象物質を測定するための分析用試験片であって、前記検出可能な物質を検出するための検出部を有する試験部を1以上備え、少なくとも前記検出部に層状無機化合物を含有する試験片。

【請求項2】 検出部として検出可能な物質を検出するための検出層を含む、2以上の層からなる試験部を1以上備え、少なくとも前記検出層に層状無機化合物を含有する、請求項1記載の試験片。

【請求項3】 前記試験部が、さらに試料を拡散するための拡散層を含み、試料が前記拡散層を通って拡散し前記検出層に到達するようにしたことを特徴とする、請求項2記載の試験片。

【請求項4】 検出部として検出可能な物質を検出するための検出領域を有する試験部を1以上備え、少なくとも前記検出領域に層状無機化合物を含有する、請求項1記載の試験片。

【請求項5】 前記試験部が、さらに前記試料を拡散するための拡散領域を有し、試料が前記拡散領域を通って拡散し前記検出領域に到達するようにしたことを特徴とする、請求項4記載の試験片。

【請求項6】 前記検出領域が、検出可能な物質を検出するための検出層を含む2以上の層からなる、請求項4又は5記載の試験片。

【請求項7】 前記試験部が、さらに試料中の分析対象物質と試薬とが反応するための反応部を有し、前記検出可能な物質が前記反応部で生成されるようにしたことを特徴とする、請求項1～6のいずれかに記載の試験片。

【請求項8】 前記検出部が、試料が拡散して前記反応部を通過した後の位置に設けられていることを特徴とする、請求項7記載の試験片。

【請求項9】 前記検出可能な物質が、前記検出部において試料中の分析対象物質と試薬との反応により生成することを特徴とする、請求項1～6のいずれかに記載の試験片。

【請求項10】 前記試験片における層状無機化合物を含有する部分が多孔質構造体からなるものである、請求項1～9のいずれかに記載の試験片。

【請求項11】 前記多孔質構造体が、前記層状無機化合物によって形成されているか、又は親水性ポリマー、メンブランフィルター、纖維集合体、及び有機化合物もしくは無機化合物の微粉末からなる群から選ばれる少なくとも1種と前記層状無機化合物とによって形成されている、請求項10記載の試験片。

【請求項12】 層状無機化合物が2：1型粘土鉱物である、請求項1～11のいずれかに記載の試験片。

【請求項13】 2：1型粘土鉱物が膨潤性層状粘土鉱物である、請求項12記載の試験片。

【請求項14】 膨潤性層状粘土鉱物がペントナイト、スメクタイト、バーミキュライト及び合成フッ素雲母から選ばれる少なくとも一種である、請求項13記載の試験片。

【請求項15】 スメクタイトが合成スメクタイトである、請求項14記載の試験片。

【請求項16】 合成スメクタイトが、ヘクトライトおよびサボナイトからなる群から選ばれる少なくとも一種である、請求項15記載の試験片。

10 【請求項17】 前記試験部に試薬が含有されている、請求項1～16のいずれかに記載の試験片。

【請求項18】 試薬が、試験部への試料の添加前及び／又は添加後に試薬を溶解した試薬溶液を添加することにより前記試験部に含有される、請求項17記載の試験片。

【請求項19】 層状無機化合物を含有する部分に、更に緩衝剤またはその乾燥物が含まれる、請求項1～18のいずれかに記載の試験片。

20 【請求項20】 試薬が、分析対象物質と反応して光学的方法によって検出可能な物質を生成しうるものである、請求項1～19のいずれかに記載の試験片。

【請求項21】 光学的方法によって検出可能な物質が水溶性である、請求項20記載の試験片。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】本発明は、液体中の分析対象物質を検出・測定するための乾式の試験片に関する。詳しくは、本発明は、色素等の拡散・溶出を抑制して検出・測定の感度及び精度を高め、また取り扱いを簡便ならしめた試験片に関する。

【0002】

【従来の技術】尿等の液体中の成分を検査・分析するための試験片は、通常、試料液の吸収、拡散、反応、検出など一連の分析プロセスを担う機能的な部分である試験部と、試験部を支持する支持部とからなり、さらに必要に応じセンサー、試料液吸入装置等を有する。そして、前記試験部はさらに種々の機能を担う層や領域などの部分からなり、一般的には、試料液を吸いし試験部内に導入するための試料吸入部、試料液を試験部内で均一に浸透・拡散させるための拡散浸透部、試料中に含まれる分析対象物質と反応する試薬を含む試薬部、検出反応などの反応がおきる反応部、試料中の成分や検出反応で生成する色素等を吸着や分配などのクロマトグラフィー類似の作用で分離する展開部、試料液が移動する時間を利用して反応の進行を調整するための時間調整部、試料中の成分や生成する色素等を吸着作用でトラップし、又は除去するための保持部、反射率や透過吸収、蛍光などで色素等を検出する検出部、過剰の試料液、添加された洗浄液や展開液を吸いし逆流を防止する吸収部等の各部からなる。

40 【従来の技術】尿等の液体中の成分を検査・分析するための試験片は、通常、試料液の吸収、拡散、反応、検出など一連の分析プロセスを担う機能的な部分である試験部と、試験部を支持する支持部とからなり、さらに必要に応じセンサー、試料液吸入装置等を有する。そして、前記試験部はさらに種々の機能を担う層や領域などの部分からなり、一般的には、試料液を吸いし試験部内に導入するための試料吸入部、試料液を試験部内で均一に浸透・拡散させるための拡散浸透部、試料中に含まれる分析対象物質と反応する試薬を含む試薬部、検出反応などの反応がおきる反応部、試料中の成分や検出反応で生成する色素等を吸着や分配などのクロマトグラフィー類似の作用で分離する展開部、試料液が移動する時間を利用して反応の進行を調整するための時間調整部、試料中の成分や生成する色素等を吸着作用でトラップし、又は除去するための保持部、反射率や透過吸収、蛍光などで色素等を検出する検出部、過剰の試料液、添加された洗浄液や展開液を吸いし逆流を防止する吸収部等の各部からなる。

【0003】実際の試験片では、必ずしもこれらの各機能を担う部分が各々独立して存在するとは限らず、例えば検出部が試料吸入部、試薬部、反応部と同一であるリトマス試験紙のように、一つの部で複数の機能を兼ね備える場合がある。

【0004】また、例えば試料吸入層を兼ねる拡散層、試薬層と反応層とを兼ねる検出層、あるいは試薬層を兼ねる反応層と独立した検出層を備える単層型又は多層型の試験片を挙げることもできる。これらの多くは支持体上に接着層によって貼り付けられている。反応層と検出層の間などに妨害成分を除去するなどの作用を有する展開層ないしは保持層を持つ場合もある。拡散層が展開層を兼ね、接着層によって試薬層に接している場合もある。検出が反射率測定によって行われる場合では、検出層の前後に反射層を設ける場合もある。試料液は、試料吸入層を兼ねる拡散層に点着され、均一に拡散しながら試薬層内の試薬を溶解させることにより反応が進行し、例えば色素前駆体から色素が生成する。試薬層と反応層が検出層を兼ねる場合ではそのまま測定されるが、独立した検出層を備える場合では生成した色素等がさらに検出層に浸透移動し、その時点で測定される。(H. G. Curme, et al., Clinical Chemistry, 24(8), 1335-1342(1978)、B. Walter, Analytical Chemistry, 55(4), 498A(1983)、近藤朝士「ふんせき」1984(7), 534、近藤朝士「ふんせき」1986(6), 387、分析化学便覧第8頁(日本分析化学会編:改訂4版、丸善(1991))、特開平6-213886(北島昌夫ら)参照。)

【0005】また、例えは紙細片上の試験片の末端に展開液の浸透部を有し、そのとなりに試料吸入部を備え、その中央寄りに試薬部(酵素を固定)を兼ねた反応部を備え、さらにその先に試薬部(色素前駆体等を固定)と反応部と保持部を兼ねた検出部を備えた、試料液等の平面的な移動を利用する試験片が挙げられる。この場合、試料液を試料吸入部に点着した後、試験片の末端から展開液を浸透させて毛細管作用で試料を移動させ、最初の試薬部(酵素を固定)を兼ねた反応部で酵素と反応して過酸化水素を生成し、さらに生成した過酸化水素が展開液によって移動して2番目の試薬部(色素前駆体等を固定)と反応部と保持部を兼ねた検出部において色素前駆体等を呈色させ、生成した色素等(検出可能な物質)を吸着保持する。展開液の移動と共に過酸化水素が移動し、その移動と共に呈色反応がおきるので、分析対象物質の量が増すと呈色する幅が長くなり、これにより物質を測定することができる。(M. P. Allen, et al., Clinical Chemistry, 36(9), 1591-1597(1990)、D. Noble, Analytical Chemistry, 65(23), 1037A(1993)参照。)

【0006】このような試験片は尿試験、生化学試験、イムノクロマト試験等に用いられている。イムノクロマト試験片の例としては、例えば抗体を固定化したろ紙

(全面が試薬部、反応部、展開部、保持部、及び検出部と言ってもよい)の一端を、試薬である酵素固定化抗原と、抗原(分析対象物質)を含む試料を混合した展開液に浸漬して展開させ、次いで、2番目の試薬である発色液(色素前駆体を含む)で展開すると、あらかじめ展開され捕捉されていた酵素固定化抗原が存在する部分が帯状に呈色する。この呈色する帯の長さは試料中の抗原の量に比例する。(R. F. Zuk, et al., Clinical Chemistry, 31(7), 1144-1150(1985)参照。)

10 【0007】また、イムノクロマト試験片の他の例として、メンブランフィルター細片上の一端に試料吸入部を兼ねた試薬部(第1抗体固定化着色ラテックス)を備え、中央寄りに展開部を兼ねる試薬部(第1抗体と同じ抗原を認識するがエピトープが異なる第2抗体)を備え、次いで展開部を備え、さらに試薬部(抗第1抗体抗体)と保持部を兼ねる検出部を備えた試験片が挙げられる。試料吸入部に試料液を点着すると、抗原(分析対象物質)と第1抗体が抗原抗体反応を起こし、免疫複合体のまま試料液の移動と共に移動し、展開部を兼ねる試薬部において第2抗体とサンドイッチ反応を生じる。しかし、免疫複合体を作らない過剰の第1抗体は、試料液の移動とともに展開部を通過し、試薬部(抗第1抗体抗体)と保持部を兼ねる検出部において捕捉される。第1抗体が固定化されている着色ラテックス(検出可能な物質の色素を含む)の呈色を測定することにより分析対象物質を測定することができる。(I. W. Davidson, Analytical Proceedings, 29, 459(1992)参照。)

20 【0008】しかし、上述した種々の試験片において、分析すべき成分との反応により生成する色素等は、多くの場合試料液、反応液等に対する溶解性があり、その結果、色素等のバルク液への溶出、拡散層へのバックフラッシュ、複数の試験部を有する多項目試験紙における色素等の隣接する試験部への付着等の不都合が生じる。また、乾燥に伴って色素等が試験部の縁へ移動して中央部の濃度が薄くなり周辺部の濃度が濃くなるといった現象も生じる。

30 【0009】測定の感度、正確さ、精度を低下させるこれらの不都合な現象は、特に試料液に浸漬して測定する尿試験紙等において顕著であるが、試料の種類にかかわらず一般的なことである。

40 【0010】これに対し、試験部にカバーを被せて試薬の溶出を防ぐ方法(特開平2-38861)、吸収性のよい多孔質構造体(多孔質層、多孔性膜など)からなる試験部に試料を均一に吸収させて隣接する試験部との液絡を防止する方法(特開平2-6541)、不溶性の色素を生成する反応を選択する方法、不溶性、疎水性のバインダー(固着剤)を利用して生成色素などを捕捉する方法(特開平7-181174)、多項目試験紙では隣接する試験部間の距離を広げる方法、浸漬時間を制御・調整する方法、拡散が起こる前に測定するよう時間を制

御する方法等が提案されている。

【0011】しかし、試験部にカバーを設けたり、沈殿凝固法などの処方で多孔質構造体を調製するのは、試験紙の製造工程が複雑になるという欠点がある。また、不溶性の色素などが生成する反応を選択すると、例えば酵素活性の生成物阻害が生じるなどの欠点がある。疎水性高分子をバインダーにした試験片では、水性試料溶液の吸収性が悪化するなどの欠点がある。また、多項目試験片では、通常一個のセンサーが複数の試験部を移動して反射光測定などを行っているので、試験部間の距離を広げると大面積が必要となったりセンサーの移動に不利となったりする欠点がある。その他、浸漬時間を制御する方法は尿試験では面倒であるという欠点があり、時間を制御する方法は反応時間との関係で容易ではないという欠点があるなど、それぞれに問題点があり、未だに満足のいく解決策は見い出されていないのが現状である。

【0012】また、電子伝達物質（メディエーター）と分析対象物質の間に酵素などによって酸化／還元反応を起こさせ、生じた電子伝達物質の酸化体／還元体を電極で還元／酸化するときの電気化学応答から分析対象物質の量を求める方法があり、重要な定量方法となっている。更に、特定のイオンと配位結合またはイオン結合をする配位子（イオノフォア）などが、液膜電極に用いられ、生成した錯体化合物の移動に伴う膜電位を測定することによって、分析対象物質であるイオンを定量する方法が知られており、やはり重要な定量法になっている。

【0013】このような電気化学的に検出できる電子伝達物質の酸化体／還元体または錯体化合物を用いる電極では、通常、不溶性のポリマー中に電子伝達物質または配位子を加えることによって、電子伝達物質または配位子の溶出や拡散の防止をはかり、同時に、速やかに電子移動が起きるように電極表面の近傍に電子伝達物質または配位子を保持させているが、ポリマー中の物質移動は制限を受けるため、試料中の分析対象物質または分析対象物質から生成する中間物質と、不溶性のポリマー中の電子伝達物質または配位子との反応が阻害されるという基本的な欠点があり、やはり満足のいく解決策は見い出されていないのである。

【0014】

【発明が解決しようとする課題】本発明は、色素等の拡散・溶出を抑制し、正確な検査・分析を可能にし、且つ簡便に取り扱える分析用試験片を提供することを課題とする。

【0015】

【課題を解決するための手段】本発明者等は、試験片において、分析対象物質と試薬とが反応して生成する色素等を測定する領域である検出部に、特定の無機化合物を配合しておくことにより、色素等の拡散・溶出が抑制され、上記課題が解決されることを見出し、本発明を完成了。

【0016】すなわち、本発明は、試料中の分析対象物質と試薬とが反応して生成する検出可能な物質を測定することにより前記分析対象物質を測定するための分析用試験片であって、前記検出可能な物質を検出するための検出部を有する試験部を1以上備え、少なくとも前記検出部に層状無機化合物を含有する試験片に関する。

【0017】また、本発明は、前記検出部として検出可能な物質を検出するための検出層を含む、2以上の層からなる試験部を1以上備え、少なくとも前記検出層に層状無機化合物を含有する前記試験片に関する。

【0018】また、本発明は、前記試験部が、さらに試料を拡散するための拡散層を含み、試料が前記拡散層を通過て拡散し前記検出層に到達するようにしたことを特徴とする前記試験片に関する。

【0019】また、本発明は、検出部として、検出可能な物質を検出するための検出領域を有する試験部を1以上備え、少なくとも前記検出領域に層状無機化合物を含有する前記試験片に関する。

【0020】また、本発明は、前記試験部が、さらに前記試料を拡散するための拡散領域を有し、試料が前記拡散領域を通過て拡散し前記検出領域に到達するようにしたことを特徴とする前記試験片に関する。

【0021】また、本発明は、前記検出領域が、検出可能な物質を検出するための検出層を含む2以上の層からなる前記試験片に関する。また、本発明は、前記試験部がさらに試料中の分析対象物質と試薬とが反応するための反応部を有し、前記検出可能な物質が前記反応部で生成されたることを特徴とする前記試験片に関する。

【0022】また、本発明は、前記検出部が、試料が拡散して前記反応部を通過した後の位置に設けられていることを特徴とする前記試験片に関する。また、本発明は、前記検出可能な物質が、前記検出部において試料中の分析対象物質と試薬との反応により生成することを特徴とする前記試験片に関する。

【0023】本発明によれば、層状無機化合物を試験部に含めることにより、分析対象物と試薬との反応によって生成する色素等と前記層状無機化合物とが吸着すると考えられ、その結果、試料液や反応液等による拡散や溶出が抑制され、高感度かつ精度の高い分析が可能になる。

【0024】本発明の試験片は、液体中の成分を固相を用いて分析する方法に適用され、特に尿中のグルコース、ビリルビン等の分析に用いられる。このような液体中の成分の分析においては、試薬との反応で生成する色素等が試料液に溶解して拡散、溶出しやすく、本発明の試験片が有効である。

【0025】試薬としては、分析対象物質と検知しうる反応を起こすものであれば特に限定されないが、好ましくは分析対象物質と反応して色素化合物や電子伝達物質

の酸化体／還元体やイオノフォアとイオンの錯体化合物を生成しうるものである。尚、ここでいう色素化合物を生成する反応とは、光学的に検知しうるもののが生成する反応であればよく、発色のみならず、例えば変色、蛍光、発光等をもたらすものであってもよい。また、生成する色素化合物等が水溶性の場合、試料液や反応液等によって拡散・溶出される場合が多いため、本発明はこのような水溶性色素化合物を生成する試薬を利用する試験片に適用するのが特に好ましい。

【0026】

【発明の実施の形態】以下に、本発明の実施の形態を詳細に説明する。本発明の試験片は、試料中の分析対象物質と試薬とが反応して生成する検出可能な物質を測定することにより前記分析対象物質を測定するための分析用試験片であって、前記検出可能な物質を検出するための検出部を有する試験部を1以上備えたものである。

【0027】試験部は、試験片内において、試料液の吸収、拡散、反応、検出など一連の分析プロセスを担う機能的な部分であり、その構造は特に限定されないが、一般的には、前記反射率や透過吸収、蛍光などで色素等の検出可能な物質を検出するための検出部のほかに、試料液を吸入し試験部内に導入するための試験部の末端ないしはその近傍に設けられる試料吸入部、試料液を試験部内に均一に浸透・拡散させるための拡散浸透部、試料中に含まれる分析対象物質と反応する試薬を含む試薬部、検出反応などの反応がおきる反応部、試料中の成分や検出反応で生成する色素等をクロマトグラフィーと類似の作用で分離する展開部、試料液が移動する時間を利用して反応の進行を調整するための時間調整部、試料中の成分や生成する色素等を吸着作用でトラップし、又は除去するための保持部、過剰の試料液、添加された洗浄液や展開液を吸収し逆流を防止するための検出部に対し試料吸入部と反対側の試験部の末端又は近傍に設けられる吸収部等を備えている。

【0028】これら試験部の機能を担う各部は、各々相互に重複していてもよく、例えば検出部が試薬部と反応部とを兼ねたり、検出部が保持部を兼ねるなど、一つの部が複数の機能を兼ね備えていてもよい。

【0029】本発明の試験片の好ましい態様としては、例えば前記検出部として、検出可能な物質を検出する検出層を含む2以上の層からなる多層型試験部を1以上備えた試験片が挙げられる。検出層以外の層としては、試料液を吸入し試験部に導入するための試料吸入層、試料液を試験部に均一に浸透・拡散させるための拡散層、試料中に含まれる分析対象物質と反応する試薬を含む試薬層、検出反応などの反応がおきる反応層、反応層と検出層の間などに設けられる妨害成分を除去するなどの作用を有する展開層ないしは保持層、過剰の試料液、添加された洗浄液や展開液を吸収し逆流を防止する吸収層、試験部を支持体上に固定させるための接着層等を設けるこ

とができる。特に好ましくは、前記検出層のほかに、さらに試料を拡散するための拡散層を含み、試料が前記拡散層を通じて拡散し前記検出層に到達するようにした前記試験片が挙げられる。多層型試験部を有する試験片の例を後述する実施例4に示す。

【0030】また、別の好ましい態様としては、例えば前記検出部として前記検出可能な物質を検出するための検出領域を有する試験部を1以上備えた試験片が挙げられる。前記検出領域以外の領域としては、試料液を吸入し試験部に導入するための試料吸入領域、試料液を試験部に均一に浸透・拡散させるための拡散領域、試料中に含まれる分析対象物質と反応する試薬を含む試薬領域、検出反応などの反応がおきる反応領域、試料中の成分や検出反応で生成する色素等を吸着や分配などのクロマトグラフィー類似の作用で分離する展開領域、試料液が移動する時間を利用して反応の進行を調整するための時間調整領域、試料中の成分や生成する色素等を吸着作用でトラップし、又は除去するための保持領域、過剰の試料液、添加された洗浄液や展開液を吸収し逆流を防止する吸収領域等を試験片上に設けることができる。特に好ましくは、前記検出領域のほかに、さらに試料を拡散するための拡散領域を含み、試験片の末端等に点着された試料が前記拡散領域を通じて、毛細管浸透作用で主として平面的に試験片上を移動し前記検出領域に到達できるようにしたものが挙げられる。また、この場合、前記検出領域が、検出可能な物質を検出するための検出層を含む2以上の層からなる上述した多層構造を有するものであってもよい。このような試料液等の平面的な移動を利用した試験片の例を後述する実施例5に示す。

【0031】本発明においては、試料中の分析対象物質と試薬とが反応するための反応部を前記検出部とは別に設け、前記検出可能な物質が前記反応部で生成された後、前記検出部に導入され検出されるようにしたものであってもよい。その場合、前記検出部は、試料が拡散して前記反応部を通過した後の位置に設けられるのが好ましい。具体的には、多層型試験部の表面から浸透した試料が拡散層を通じて拡散して中間層の反応層に移動し、さらに前記反応層を通過した後に到達する位置に検出層を設けるのが好ましい。また、試験片上に検出領域、反応領域及び拡散領域を設け、前記試料が主として平面的に移動して拡散領域を通じて浸透して反応領域に移動し、さらに前記反応領域を通過した後に到達する領域に検出領域を設けるのが好ましい。

【0032】また、本発明においては、前記検出部が同時に試料中の分析対象物質と試薬とが反応するための反応部をも兼ねるようにし、前記検出可能な物質が、前記検出部において試料中の分析対象物質と試薬との反応により生成するようにもよい。

【0033】本発明の検出部は、分析対象物質と試薬との反応によって生成した色素等の検出可能な物質が実際

に検出される部分であるが、上述したように前記反応が起こる反応部や試薬が含まれる試薬部などを兼ねている場合があり、その場合は通常検出部にあらかじめ試薬が含まれている。一方、本発明においては、前記反応部や試薬部とは別の独立した検出部を有するものであってもよいから、その場合は、必ずしも最初に試薬が試験部に含まれていなくてもよく、試料を添加する前及び／又は添加した後に試薬を添加するような形式であってよい。また、分析対象物質と試薬との反応によって生成した色素等の検出可能な物質の溶液を添加する形式であってよい。

【0034】本発明の試験片は、通常このような試験部と、試験部を支持するシート状、管状、棒状等の支持部とかなりり、さらに必要に応じ電極等のセンサー、試料液吸入装置等が付随していてもよい。

【0035】本発明は、以下に述べるような色素等の検出可能な物質を生成しうる試薬及び反応系を利用した試験片に適用するのが好ましい。試薬としては、反応によって生成した色素等の検出可能な物質が、本発明の層状無機化合物と吸着など相互作用を生じて複合体を形成しうるものであれば特に限定されない。層状無機化合物に吸着可能な物質は、例えば、H.Van Olphen著の成書「An Introduction to Clay Colloid Chemistry, Second Edition」(Krieger Publishing, Malabar)の11章「Interaction of Clays and Organic Compounds」などに詳述されている。また、特公昭50-8462(加藤忠義)などには、多数の吸着可能な化合物が紹介されている。

【0036】層状無機化合物に吸着等する検出可能な物質を生成する試薬は、酸化還元反応、酸塩基反応、縮合反応、錯体形成反応などにより色素、蛍光色素等の光学的に検出可能な物質を生成する色素前駆体等の化合物や、電気化学的に検出可能なメディエーター（電子伝達物質）の酸化体／還元体または錯体化合物を生成する化合物などにおいて幅広く見出すことができる。

【0037】試料、試薬又は反応物は、水を溶媒とする溶液であることが多いので、前述の検出可能な物質が水溶性であれば拡散・溶出されやすい。したがって、検出可能な物質が水溶性であるとき本発明の効果が特によく現れる。よって、用いる試薬は水溶性の検出化合物を生成する試薬であることが好ましく、実際にそのような試薬は数多く利用されている。しかし、これに限定されず、試料、試薬又は反応物が水以外の溶媒によるものであってもよく、その場合、用いる試薬はその溶媒によって拡散・溶出される検出可能な物質を生成するものであっても差し支えない。もちろん、試料、試薬又は反応物の溶媒に不溶性の検出可能な物質を生成する試薬を用いてもかまわない。

【0038】以下に、光学的に検出可能な物質を生成する試薬について具体的に説明する。色素前駆体としては、好ましくは芳香環等の共役系を有する化合物が用い

られ、具体的には、4-アミノ-1, 2-ジヒドロ-1, 5-ジメチル-2-フェニル-3H-ピラゾール-3-オンに代表されるカブラーと、水素供与体（N-エチル-N-（3-スルホプロピル）-3, 5-ジメチルアニリンなど）の試葉類（酸化縮合することによってキノン系色素を生成する）、オルトトリジン、ベンジジン類（3, 3', 5, 5' -テトラメチルベンジジンなど）などの酸化発色体色素を生成する色素前駆体、2, 6-ジクロロ-4-[（4-ヒドロキシフェニル）イミノ]-2, 5-シクロヘキサジエン-1-オンなどの色素のロイコ体（酸化されることによって発色する）、4-ヒドロキシフェニル酢酸などの酸化されて蛍光物質を生成する化合物、化学発光物質など発光物質、テトラゾリウム塩（還元されてホルマザンを生成する）、1, 1'-ジメチル-4, 4'-ビビリジリウム塩などの還元されて色素を生成する試葉類、プロモクレゾールグリーンなどpHの変化によって発色または変色する化合物、2-メトキシ-4-モルホリノベンゼンジアゾニウム塩などのジアゾニウム塩（カップリングによってアゾ系色素を生成する）、2, 3-ジメチル-2, 3-ビス（ヒドロキシアミノ）ブタン（アルデヒドと反応して呈色する）など種々の公知の呈色反応用試葉、オルトフタルアルdehyド（ヒスタミンと反応して蛍光物質を生成する）など種々の公知の反応用試葉、4-メチルウンベリフェリルリン酸塩などの酵素基質、2-(5-ブロモ-2-ビリジルアゾ)-5-[N-ブロピル-N-（3-スルホプロピル）アミノ]アニリン塩などの錯体を形成し発色・変色する化合物等が挙げられる。

【0039】ここで、水素供与体とは、過酸化水素の共存下、ペルオキシダーゼ作用で、4-アミノ-1, 2-ジヒドロ-1, 5-ジメチル-2-フェニル-3H-ピラゾール-3-オン（以下、4-AAと略す。）や3-メチル-2-ベンゾチアゾリノンヒドラゾンと縮合してキノン系色素を生成するフェノール等の化合物であり、具体的にはジクロロフェノール、オルトメトキシフェノール、1, 2, 3-トリヒドロキシベンゼン、ジメチルアニリン、N-エチル-N-スルホプロピルメタアニジン、N-エチル-N-スルホプロピルアニリン、N-エチル-N-（3-スルホプロピル）-3, 5-ジメトキシアニリン、N-エチル-N-（3-スルホプロピル）-3, 5-ジメチルアニリン、N-エチル-N-（2-ヒドロキシ-3-スルホプロピル）メタアニジン、N-エチル-N-（2-ヒドロキシ-3-スルホプロピル）アニリン、N-エチル-N-（2-ヒドロキシ-3-スルホプロピル）-3, 5-ジメトキシアニリン、N-（2-ヒドロキシ-3-スルホプロピル）-3, 5-ジメトキシアニリン、N-エチル-N-（2-ヒドロキシ-3-スルホプロピル）-3, 5-ジメチルアニリン、N-エチル-N-（2-ヒドロキシ-3-スルホプロピル）-3, 5-ジメチルアニリ

ロビル) メタトルイジン、N-(3-スルホプロビル) アニリン等が挙げられる。

【0040】またオルトリジン、ベンジン類としては、オルトリジン、ジアニシジン、3, 3'-ジアミノベンジジン、3, 3', 5, 5'-テトラメチルベンジジン、N-(3-スルホプロビル)-3, 3', 5, 5'-テトラメチルベンジジン等が挙げられる。

【0041】またロイコ体とは酸化されて色素となり発色する無色の色素前駆体である。ロイコ体が酸化された色素としては、2, 6-ジクロロ-4-[(4-ヒドロキシフェニル) イミノ]-2, 5-シクロヘキサジエン-1-オン、2, 6-ジクロロ-4-[(3-クロロ-4-ヒドロキシフェニル) イミノ]-2, 5-シクロヘキサジエン-1-オン、7-(ジエチルアミノ)-3-イミノ-8-メチル-3H-フェノキサジン塩、3-(ジエチルアミノ)-7-アミノ-5-フェニルフェナジニウム塩、3, 7-ビス(ジメチルアミノ) フェノチアジン-5-イウム塩、1-ヒドロキシ-5-メチルフェナジニウム塩、7-ヒドロキシ-3H-フェノキサジン-3-オン-10-オキシドが挙げられ、ロイコ体としては、4, 4'-ペンジリデンビス(N, N-ジメチルアニリン)、4, 4'-ビス[N-エチル-N-(3-スルホプロビルアミノ)-2, 6-ジメチルフェニル] メタン、1-(エチルアミノ)チオカルボニル)-2-(3, 5-ジメトキシ-4-ヒドロキシフェニル)-4, 5-ビス(4-ジエチルアミノフェニル) イミダゾール、4, 4'-ビス(ジメチルアミノ)ジフェニルアミン、N-(カルボキシメチルアミノ)カルボニル)-4, 4'-ビス(ジメチルアミノ)ジフェニルアミン塩、10-(カルボキシメチルアミノ)カルボニル)-3, 7-ビス(ジメチルアミノ)フェノチアジン塩等が挙げられる。

【0042】酸化されて発色する色素前駆体としては、そのほかに、4-メトキシフェノール、4-エトキシフェノール、2-エトキシフェノール、1-(2-ヒドロキシ-5-メトキシフェニル) エタノン、2-ヒドロキシ-5-メトキシ安息香酸、2-ヒドロキシ-5-メトキシベンズアルデヒド、2-ヒドロキシ-5-メトキシ安息香酸メチル、4-メトキシ-2-ニトロフェノール、2-クロロ-4-メトキシフェノール、4-ヒドロキシ-3-メトキシベンズアルデヒド、4-ヒドロキシ-3-メトキシ安息香酸などが挙げられる。

【0043】また、3-(4-ヒドロキシフェニル)-2-プロペン酸、2-ヒドロキシフェニル酢酸、3-ヒドロキシフェニル酢酸、4-ヒドロキシフェニル酢酸、3-ヒドロキシ安息香酸、4-ヒドロキシ安息香酸、2-アミノ安息香酸、3-アミノ安息香酸、4-アミノ安息香酸、3, 4-ジアミノ安息香酸、3, 5-ジアミノ安息香酸、4-アミノ-2-クロロ安息香酸、4-アミノ-3-メチル安息香酸、4-アミノ-3-メトキシ安

息香酸、4-アミノフタル酸などが挙げられる。

【0044】また、2, 4-ジアミノ-6-ヒドロキシピリミジン、4, 5-ジアミノ-6-ヒドロキシピリミジン、4-アミノ-2, 6-ジヒドロキシピリミジン、6-ヒドロキシ-2, 4, 5-トリアミノピリミジン、4, 5-ジアミノ-2, 6-ジヒドロキシピリミジン、4-アミノ-6-ヒドロキシピリミジン、4-アミノ-6-ヒドロキシ-2-メトキシピリミジンなどが挙げられる。

【0045】また酸化されて蛍光物質を生成する試薬類としては、4-ヒドロキシフェニル酢酸、(4-ヒドロキシ-3-メトキシフェニル) 酢酸、3-(4-ヒドロキシフェニル) プロピオン酸、4-ヒドロキシ(2-アミノエチル) フェノール、4-ヒドロキシ-N, N, N-トリメチルベンゼンメタミニウム、アルファアミノバラヒドロキシヒドロケイ皮酸、4-ヒドロキシフェニルアミン、N-(4-ヒドロキシフェニル) アセトアニリド、2, 7-ジクロロフルオレッセンジアセテート等が挙げられる。

【0046】また化学発光物質など発光物質としては、ホタルルシフェリン、ウミホタルルシフェリン、エクオリン、ルシゲニン誘導体、ルミノール誘導体、アクリジニウムエステル、過シュウ酸エステル等が挙げられる。

【0047】例えば前記4-AAと水素供与体、ベンジン類、ロイコ体が過酸化水素など酸化性物質の存在下で酸化反応して発色する反応系を利用する方法では、生成する色素を吸光度計などで測定して間接的に過酸化水素を定量することによって分析対象物質を定量するのである。

【0048】また前記蛍光物質や発光物質が生成する反応系を利用する方法では、蛍光度計や発光度計などで測定して間接的に過酸化水素を定量することによって分析対象物質を定量するのである。

【0049】このような色素を生成する酸化反応において、酸化反応に与る酸化剤は過酸化水素に限定されるものではなく、種々の公知の酸化剤を利用してもよい。ペルオキシダーゼなどの酸化酵素を添加してもよい。また色素が生成する酸化反応に先立って、前記酸化剤が生成する反応が生じていてもよい。

【0050】またテトラゾリウム塩としては、2, 3, 5-トリフェニルテトラゾリウム塩、2, 5-ジフェニル-3-(1-ナフチル)-2H-テトラゾリウム塩、3, 3'-(3, 3'-ジメトキシ-(1, 1'-ビフェニル)-4, 4'-ジイル)-ビス[2-(4-ニトロフェニル)-5-フェニル-2H-テトラゾリウム] 塩、3, 3'-(3, 3'-ジメトキシ-(1, 1'-ビフェニル)-4, 4'-ジイル)-ビス(2, 5-ジフェニル-2H-テトラゾリウム) 塩、2-(4-ヨードフェニル)-3-(4-ニトロフェニル)-5-フェ

ニル-2H-テトラゾリウム塩、2-(4-ヨードフェニル)-3-(4-ニトロフェニル)-5-(2,4-ジスルホフェニル)-2H-テトラゾリウム塩、2-(4-ヨードフェニル)-3-(2,4-ジニトロフェニル)-5-(2,4-ジスルホフェニル)-2H-テトラゾリウム塩、3,3'-(1,1'-ビフェニル-4,4'-ジイル)-ビス(2,5-ジフェニル-2H-テトラゾリウム)塩、3-(4,5-ジメチル-2-チアゾリル)-2,5-ジフェニル-2H-テトラゾリウム塩等が挙げられる。

【0051】また還元されて色素を生成する化合物としては、1,1'-ジメチル-4,4'-ビピリジリウム塩、1,1'-ジベンジル-4,4'-ビピリジリウム塩等の還元体が挙げられる。また7-ヒドロキシ-3H-フェノキサジン-3-オン-10-オキシドなどが還元されて蛍光色素を生成するが、このような蛍光色素を生成する試薬としては、7-ヒドロキシ-3H-フェノキサジン-3-オン-10-オキシド、5-シアノ-2,3-ビス(4-メチルフェニル)-2H-テトラゾリウム塩、2,3-ビス(4-シアノフェニル)-5-シアノ-2H-テトラゾリウム塩等が還元されて生成する蛍光物質等が挙げられる。

【0052】例えば前記テトラゾリウム塩などが還元剤の存在下で還元反応して発色する反応系を利用する方法では、生成する色素を吸光光度計又は蛍光光度計などで測定して間接的に還元剤を定量することによって分析対象物質を定量するのである。また色素が生成する還元反応に先立って還元剤が生成する反応が生じていてよい。

【0053】このような色素を生成する還元反応において、還元反応に与る還元剤としてニコチンアミドアデニンジヌクレオチドもしくはニコチンアミドアデニンジヌクレオチドホスフェートが好ましく用いられる。しかしながらこれに限定されるものではなく、種々の公知の還元剤を利用してよい。

【0054】またpHの変化によって発色または変色する化合物としては、プロモクレゾールグリーン、プロモフェノールブルー、フェノールレッド、プロモピロガロールレッド、ピロガロールレッドなどのスルホンフタレン系色素、マラカイトグリーン、ロゾリックアシドなどのトリフェニルメタン系色素、キナルシンレッド、N-(パラヒドロキシフェニル)-2,6-ジクロロパラベンゾキノンイミンなどのキノリン系色素、7-ヒドロキシ-3H-フェノキサジン-3-オン-10-オキシドなどのオキサゾン系色素、6,7-ジヒドロキシ-4-メチルクマリンなどのクマリン系色素、アニリンオリゴマーなどの導電性高分子化合物が挙げられる。

【0055】例えばpHの変化によって発色または変色する化合物が酸または塩基によって発色または変色する反応系を利用する方法では、生成する色素を吸光光度計

などで測定して間接的に酸または塩基を定量することによって分析対象物質を定量するのである。

【0056】また例えばpHの変化によって発色または変色する化合物が水素イオンによって発色または変色する反応系を利用する方法では、生成する色素を吸光光度計などで測定して水素イオン濃度を定量することによって分析対象物質を定量するのである。

【0057】またジアゾニウム塩としては、インドキシリとカップリングしてアゾ系色素を生成する2-メトキシ-4-モルホリノベンゼンジアゾニウム塩、ウロビリノーゲンとカップリングしてアゾ系色素を生成する3,3'-ジメトキシビフェニル-4,4'-ジアゾニウム塩などが挙げられる。またこの範疇にある試薬としては、ジアゾニウム塩を生成する反応に与る試薬がある。そのような試薬としては、亜硝酸塩の存在下にジアゾニウム塩を生成する4-アミノベンゼンアルソン酸やそのジアゾニウム塩とカップリングしてアゾ系色素を生成するN-1-ナフチルエチレンジアミンが挙げられる。また亜硝酸塩の存在下にカップリングしてアゾ系色素を生成する2,4-ジクロロアニリン、N,N-ジエチル-N'-1-ナフチルナフチルエチレンジアミンシュウ酸塩(津田試薬)が挙げられる。また、亜硝酸塩が挙げられる。

【0058】前記アゾ系色素が生成する反応系を利用する方法では、生成する色素を吸光光度計などで測定して反応の出発物質である分析対象物質(前記の例ではインドキシリ、ウロビリノーゲン、亜硝酸塩である)を定量するのである。アゾ系色素が生成する反応は、もちろん前記の例に限定されるものではなく、種々の公知のアゾ系色素が生成する反応に好ましく適用される。

【0059】また種々の公知の呈色反応用試薬としては、アルデヒドを検出するときの過酸化水素と1,4-ジアミノベンゼン、アルデヒドを検出するときの2,3-ジメチル-2,3-ビス(ヒドロキシアミノ)ブタン、アルデヒドを検出するときの3-メチル-2-ベンゾチアゾリノンヒドラゾンと酸化剤、二級アミンを検出するときの10H-フェノキサジンと臭素、チオールを検出するときの2,2'-ジチオジピリジンなどが挙げられるが、もちろんこれに限定されるものではない。前記公知の呈色反応を利用する方法では、生成する色素を吸光光度計などで測定して反応の出発物質である分析対象物質(前記の例ではアルデヒド、二級アミン、チオールである)を定量するのである。利用できる公知の呈色反応は、もちろん前記の例に限定されるものではない。

【0060】また蛍光物質を生成する種々の公知の反応用試薬としては、グアニジノ化合物を検出するときの2-ヒドロキシ-1,2-ジフェニルエタノン、ヒスタミンを検出するときのオルトフタルアルデヒド、スペルミジンを検出するときのオルトフタルアルデヒド、アルファケト酸を検出するときの1,2-ジアミノ-4,5-

ジメトキシベンゼンなどが挙げられるが、もちろんこれに限定されるものではない。

【0061】前記公知の検出反応を利用する方法では、生成する蛍光物質を蛍光光度計などで測定して反応の出発物質である分析対象物質（前記の例ではグアニジノ化合物、ヒスタミン、スペルミジン、アルファケト酸である）を定量するのである。利用できる公知の検出反応は、もちろん前記の例に限定されるものではない。

【0062】また酵素によって反応し色素や蛍光物質を生成する酵素基質としては、キモトリプシンの基質であるN-トシリール-フェニルアラニン-2-アミドアクリドン、アミノペプチダーゼの基質であるL-アラニン-2-アミドアクリドン、エステラーゼを測定するときの7-アセトキシ-N-メチルキノリニウム塩、エステラーゼの基質である7-アセトキシ-3H-フェノキサジン-3-オン、ホスファターゼの基質である4-メチルウンベリフェリリン酸塩、ホスファターゼの基質である5, 10, 15, 20-テトラキス(4-ホスホノオキシフェニル)ポルフィンなどが挙げられるが、もちろんこれに限定されるものではない。

【0063】例えば前記酵素基質が酵素によって分解される反応を利用する方法では、生成する色素や蛍光物質を吸光光度計や蛍光光度計などで測定して間接的に酵素を定量することによって分析対象物質を定量するのである。酵素や酵素基質は例えば抗体やその断片に化学的に結合していくてもよい。

【0064】また錯体を形成し発色・変色する化合物とは、金属イオンやアニオンと、配位結合やイオン結合で錯体を形成し、色素あるいは蛍光物質を生成する配位子などの化合物である。金属イオンと錯体を形成し発色・変色する化合物としては、金属指示薬やクロモイオノフォアとして知られている化合物のほか、有色の遷移金属イオンと錯体を形成して着色する化合物が含まれるが、具体的にはエチレンジアミン四酢酸、2, 2-ビピリジン、1-ヒドロキシ-2-(2-ヒドロキシフェニルアゾ)ベンゼン、ジベンゾー-18-クラウン-6、ジシクロヘキシル-18-クラウン-6、環状ポリアミン類、カリックス[4]アレーン、3-[N, N-ビス(カルボキシメチル)アミノメチル]-1, 2-ジヒドロキシアンスラキノン、5', 5"-ジブロモビロガロールスルホンフタイン、2-ヒドロキシ-1-(1-ヒドロキシ-2-ナフチルアゾ)-6-ニトロ-4-ナフタレンスルホン酸塩、2, 6-ジクロロ-4'-ヒドロキシ-3', 3"-ジメチルフクソン-5', 5"-二カルボン酸塩、3, 3'-ビス[N, N-ビス(カルボキシメチル)アミノメチル]フルオレッセイン、8-[N, N-ビス(カルボキシメチル)アミノメチル]-4-メチルウンベリフェロン、2, 7-ビス(2-アルソノフェニルアゾ)-1, 8-ジヒドロキシ-3, 6-ナフタレンジスルホン酸、5-クロロ-2-ヒドロキシ-3-

(2, 4-ジヒドロキシフェニルアゾ)ベンゼンスルホン酸、5-[(ヘキサヒドロ-2, 4, 6-トリオキソ-5-ピリミジニル)イミノ]-2, 4, 6(1H, 3H, 5H)-ピリミジントリオン塩、2-(5-ブロモ-2-ピリジルアゾ)-5-[N-ブロピル-N-(3-スルホブロピル)アミノ]アニリン塩、1, 8-ジヒドロキシ-2-(2-ピリジルアゾ)-3, 6-ナフタレンジスルホン酸塩、2-ニトロソ-5-[N-ブロピル-N-(3-スルホブロピル)アミノ]フェノール等が挙げられる。

【0065】また特に一価のカチオンと有色錯体を生成する化合物としては、テトラキス[3, 5-ビス(トリフルオロメチル)フェニル]ボレート塩、テトラフェニルホスホニウム塩等が挙げられる。

【0066】また特にカルシウムイオンなどと蛍光錯体を生成する化合物としては、1-[2-アミノ-5-(2, 7-ジクロロ-6-ヒドロキシ-3-オキシ-9-キサンテニル)フェノキシ]-2-(2-アミノ-5-メチルフェノキシ)エタン-N, N, N', N'-四酢酸塩、

20 酢酸塩、1-[2-アミノ-5-(2, 7-ジクロロ-6-ヒドロキシ-3-オキシ-9-キサンテニル)フェノキシ]-2-(2-アミノ-5-メチルフェノキシ)エタン-N, N, N', N'-四酢酸塩、1-[6-アミノ-2-(5-カルボキシ-2-オギザゾイル)-5-ベンゾフラニロキシ]-2-(2-アミノ-5-メチルフェノキシ)エタン-N, N, N', N'-四酢酸塩、1-[6-アミノ-2-(5-カルボキシ-2-オギザゾイル)-5-ベンゾフラニロキシ]-2-(2-アミノ-5-メチルフェノキシ)エタン-N, N, N', N'-四酢酸塩、

30 30 [6-アミノ-2-(5-カルボキシ-2-オギザゾイル)-5-ベンゾフラニロキシ]-2-(2-アミノ-5-メチルフェノキシ)エタン-N, N, N', N'-四酢酸塩、1-[2-アミノ-5-(6-カルボキシ-2-インドリル)フェノキシ]-2-(2-アミノ-5-メチルフェノキシ)エタン-N, N, N', N'-四酢酸塩、1-[2-アミノ-5-(6-カルボキシ-2-インドリル)フェノキシ]-2-(2-アミノ-5-メチルフェノキシ)エタン-N, N, N', N'-四酢酸塩、

40 40 1-[2-アミノ-5-(6-カルボキシ-2-インドリル)フェノキシ]-2-(2-アミノ-5-メチルフェノキシ)エタン-N, N, N', N'-四酢酸塩、8-アミノ-2-[(2-アミノ-5-メチルフェノキシ)メチル]-6-メトキシキノリン-N, N, N', N'-四酢酸塩、8-アミノ-2-[(2-アミノ-5-メチルフェノキシ)メチル]-6-メトキシキノリン-N, N, N', N'-四酢酸塩、8-アミノ-2-[(2-アミノ-5-メチルフェノキシ)メチル]-6-メトキシキノリン-N, N, N', N'-四酢酸ベンタアセトキシメチルエステル、3, 3'-ビス[N, N-ビス(カルボキシメチル)アミノメチル]フルオレッセイン、8-[N, N-ビス(カルボキシメチル)アミノメチル]-4-メチルウンベリフェロンなどが挙げられる。

【0067】またアニオンと有色錯体を形成するテトラフェニルアルソニウム塩、塩化物イオンと錯体を形成すると蛍光強度が減少する臭化N-エトキシカルボニルメチル-6-メトキシキノリニウム、ホウ素と錯体を形成

する8-ヒドロキシ-1-(サリシリデンアミノ)-3,6-ナフタレンジスルホン酸塩などが挙げられる。【0068】前記錯体が形成される反応を利用する方法では、イオンと配位子などが生成する色素や蛍光物質を吸光光度計や蛍光光度計などで測定して色素や蛍光物質の量を定量することによって分析対象物質（多くの場合、イオンである）を定量するのである。

【0069】以上、光学的に検出可能な物質について述べたが、次に電気化学的に検出可能な物質を生成する試薬について説明する。電気化学的方法によって検出できる電子伝達物質の酸化体／還元体または錯体化合物を生成する試薬とは、電子伝達物質（メディエーター）の還元体／酸化体または特定のイオンと配位結合またはイオン結合によって錯体を形成する配位子（イオノフォア）などである。

【0070】電子伝達物質とは、分析対象物質を酵素などによって酸化／還元し、その際分析対象物質から、または分析対象物質に、直接的に電子を受容／供与する化学物質であって、電子伝達物質の還元体／酸化体を電極で酸化／還元するときの電気化学応答から分析対象物質を定量するのである。また、電子伝達物質と分析対象物質が直接的に電子を授受していないくとも良く、電子伝達物質は、分析対象物質を酵素などによって酸化／還元し、その際分析対象物質から、または分析対象物質に間接的に電子を受容／供与する化学物質であっても良い。分析対象物質と定量的関係にある電子伝達物質の酸化体／還元体を電極で還元／酸化するときの電気化学応答から分析対象物質を定量するのである。

【0071】電子伝達物質としては、用いる電極の測定可能範囲内の電位（カーボン電極では通常-1.2V～+1.0V）で酸化還元されるものが好ましく、具体的には、1,1'-ジメチル-4,4'-ビピリジリウム塩、1,1'-ジベンジル-4,4'-ビピリジリウム塩、1,4-ジアミノベンゼン、2-メチル-1,4-ナフトキノン、N-メチルフェナジニウム塩、1-ヒドロキシ-5-メチルフェナジニウム塩、1-メトキシ-5-メチルフェナジニウム塩、9-ジメチルアミノベンゾアルファフェノキサジン-7-イウム塩、フェロセン誘導体、ヘキサシアノ鉄(II)塩、7-ヒドロキシ-3H-フェノキサジン-3-オン 10-オキシド、3,7-ジアミノ-5-フェニルフェナジニウム塩、3-(ジエチルアミノ)-7-アミノ-5-フェニルフェナジニウム塩、1,4-ベンゼンジオール、1,4-ジヒドロキシ-2,3,5-トリメチルベンゼン、N,N,N',N'-テトラメチル-1,4-ベンゼンジアミン、△2,2'-ビ-1,3-ジチオール、2,6-ジメチルベンゾキノン、2,5-ジメチルベンゾキノン、2,3,5,6-テトラメチル-2,5-シクロヘキサジエン-1,4-ジオン、2,6-ジクロロ-4-[4-ヒドロキシフェニル]イミノ]-2,5-シク

ロヘキサジエン-1-オン、2,6-ジクロロ-4-[3-クロロ-4-ヒドロキシフェニル]イミノ]-2,5-シクロヘキサジエン-1-オン、7-(ジエチルアミノ)-3-イミノ-8-メチル-3H-フェノキサジン塩、3,7-ビス(ジメチルアミノ)フェノチアジン-5-イウム塩等が挙げられる。

【0072】この例において、電子伝達物質の還元体／酸化体が電気化学的に検出可能な物質を生成する試薬であって電気化学的に検出可能な物質を生成する反応とは、電子伝達物質の酸化／還元反応である。前述のように分析対象物質と定量的関係をもって存在する電子伝達物質の酸化体／還元体を電極で還元／酸化するときの酸化還元電流などの電気化学応答を測定し、分析対象物質を定量するのである。

【0073】イオノフォアとは、分析対象物質である特定のイオンと選択的に配位結合またはイオン結合を生じ、錯体となる配位子などの化合物であって、液膜電極で用いられていることは特に良く知られている。

【0074】具体的には、カチオンと錯体をつくるイオノフォアとして、テトラキス[3,5-ビス(トリフルオロメチル)フェニル]ボレート塩、テトラフェニルホスホニウム塩、バリノマイシン、シクロ(N',N'-ジオクチル-D-アスパラギニル-L-プロリル-L-アラニル)₂、ビス(ベンゾ-1,5-クラウン-5)、ビス[(ベンゾ-1,5-クラウン-5)-4-メチル]ピメレート、ビス(1,2-クラウン-4)、ビス[(1,2-クラウン-4)メチル]-2-ドデシル-2-メチルマロネート、1,4-クラウン-4、ドデシル-メチル-1,4-クラウン-4、6,6-ジベンジル-1,4,8,11-テトラオキサシクロテトラデカン、ジベンゾ-1,8-クラウン-6、ジシクロヘキシル-1,8-クラウン-6、4,16-ジ-N-オクタデシルカルバモイル-3-オキサブチリル-1,7,10,13,19-ペンタオキサ-4,16-ジアザシクロヘンイコサン等が挙げられる。

【0075】またアニオンと錯体をつくるイオノフォアとして、テトラフェニルアルソニウム塩、6-メトキシ-N-(3-スルホプロピル)キノリニウム塩などが挙げられる。

【0076】液膜電極とは、電極の表面に多孔質の高分子層などを設け、高分子層にイオノフォアを染み込ませ、試料液中の特定のイオンのみと結合させて高分子層内を移動させることによって、ある特定のイオンのみを選択分離させ、その際に生じる膜電位を測定し分析対象物質である特定のイオンを定量する方法である。もちろん電気化学的検出方法にイオノフォアが用いられるのは、この液膜電極の例に限られるわけではない。

【0077】この例において電気化学的に検出可能な物質を生成する試薬とは特定のイオンと錯体を形成するイオノフォアであり、検出可能な物質を生成する反応とは

配位結合またはイオン結合によるイオノフォアと特定のイオンとの錯体形成反応である。前述のように分析対象物質である特定のイオンの濃度に応じて発生する膜電位を電気化学的に測定することにより、分析対象物質を定量するのである。

【0078】このような検出可能な物質を生成する反応系としては、具体的には以下のような反応系が挙げられる。

【0079】(a)過酸化水素の生成反応または過酸化水素を酸化剤とする酸化反応を含む反応系を利用する方法であり、具体的には、分析対象物質から酸化酵素反応系を介して過酸化水素を生成させ、これをペルオキシダーゼの共存下、被酸化性発色体（色素前駆体）と酸化還元反応を行わせて、この反応により生成する色素化合物を比色定量する分析対象物質の分析方法。

【0080】(b)ニコチンアミドアデニンジヌクレオチド（NADH）もしくはニコチンアミドアデニンジヌクレオチドホスフェート（NADPH）を生成する反応、または、NADHもしくはNADPHを還元剤として使用する反応を含む反応系を利用する方法であって、具体的には、例えば、分析対象物質から、脱水素酵素反応系を介してNADHまたはNADPHを生成させ、これを電子伝達系存在下に色素前駆体に作用させて還元し、これにより生成する色素化合物を比色定量する分析方法。

【0081】(c)酸性下で芳香族第1アミンに亜硝酸を反応させてジアゾニウム塩を生成させ、生成したジアゾニウム塩と被カップリング試薬とを反応させ、次いで生成したアゾ色素を定量する亜硝酸塩、ジアゾニウム塩、カップリング化合物の量を測定する方法。

【0082】(d)リン酸エステルを有する4-メチルウンベリフェロンなどの蛍光酵素基質が、アルカリホスファターゼの作用によってリン酸塩を遊離して蛍光物質を生成し、生成した蛍光物質に励起光を照射し発する蛍光を測定する、蛍光酵素基質で標識された物質やアルカリホスファターゼの量を測定する方法。

【0083】(e)酸化還元酵素などによって1, 4-ジアミノベンゼンなどのメディエーターを酸化／還元し、生成したメディエーターの酸化体／還元体が電極反応で還元／酸化されるときの電流応答を測定する、酸化還元酵素や酸化還元酵素で標識された物質の量の測定方法。

【0084】このような反応系を利用した分析方法としては、ELISA等のイムノアッセイ、イムノクロマト、尿検査、生化学血液検査、比色試験紙等が挙げられる。このような試験片の具体的な例は、H. G. Curme, et al., Clinical Chemistry, 24(8), 1335-1342(1980)、B. Walter, Analytical Chemistry, 55(4), 498A(1983)、近藤朝士「ふんせき」1984(7), 534、近藤朝士「ふんせき」1986(6), 387、分析化学便覧第8頁（日本分析化学会編：改訂4版、丸善(1991)）、特開平6-213886（北島昌夫ら）、M. P. Allen, et al., Clinical Ch

emistry, 36(9), 1591-1597(1990)、D. Noble, Analytical Chemistry, 65(23), 1037A(1993)、R. F. Zuk, et al., Clinical Chemistry, 31(7), 1144-1150(1985)等の文献に詳述されている。これらの方で分析できる物質としては、体液中の尿や血液等の生体成分、食品、医薬、自然環境に存在する微量物質、産業化学物質、廃棄物中の微量物質等が挙げられ、本発明の試験片はこれらの分析に利用することができる。

【0085】本発明の試験片の試験部には、更に必要に応じてかかる分析用試験片に通常用いられる公知の配合物、例えば親水性ポリマー等を含有させることができる。

【0086】本発明においては、試験片における試験部のなかの、生成した色素が存在する部分である検出部に層状無機化合物が含まれていることが必要である。すなわち、前記試験部を構成する少なくとも1つの検出層又は検出領域に層状無機化合物が含まれていることが必要である。具体的には、検出層を含む2以上の層からなる多層型試験部においては、少なくとも前記検出層に層状無機化合物を含有する。この場合、さらに前記検出層以外の層に層状無機化合物を含有してもよく、例えば試料吸入層、拡散層、試薬層、反応層、接着層、保持層、展開層、吸収層等に層状無機化合物を含有してもよい。

【0087】また、前記試験部が検出領域を有する場合は、少なくとも前記検出領域に層状無機化合物を含有する。さらに前記検出領域以外の領域に層状無機化合物を含有していてもよく、例えば試料吸入領域、拡散領域、試薬領域、反応領域、展開領域、時間調整領域、保持領域、吸収領域等に層状無機化合物を含有してもよい。この場合、検出領域は多層構造であってもよく、その場合は検出領域を構成する層のうち少なくとも検出層に層状無機化合物を含む。また、さらに他の層に層状無機化合物が含有されていてもよい。

【0088】また、試験部が前記検出部のほかに、試料中の分析対象物質と試薬とが反応するための反応部を有する場合は、試料が拡散して前記反応部を通過した後の位置に検出部を設け、該反応部において生成された検出可能な物質が層状無機化合物を含有する検出部に移動して検出されるようにするのが好ましい。

【0089】本発明の層状無機化合物は、S_i四面体、A₁八面体等の多面体が平面状に連なったシート構造が層状に重なった結晶構造を有する無機化合物であり、層状粘土鉱物及びハイドロタルサイトが含まれる。

【0090】粘土鉱物とは、粘土（細かい土状の無機粒子で、水で湿った状態で可塑性のあるもの）の大半を占めるアルミニウムケイ酸塩鉱物をいい、通常は、S_iが4つのO（酸素原子）に囲まれたS_i四面体とA₁又はM_gが6つのOH基あるいはOに囲まれたA₁（又はM_g）八面体を最小構成単位としている。

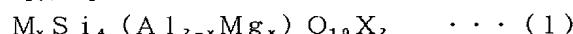
【0091】層状粘土鉱物の構造は、S_i四面体が1つ

の面を共有し、残る頂点の○を同方向に向けて六角網状のシートを形成し（四面体シート）、一方A₁（又はMg）八面体が稜角を共有してシートを形成し（八面体シート）、これらが層状に重なったものである。四面体シートと八面体シートが一枚づつ重なってできた1:1層が何枚も積み重なってできた鉱物を1:1型鉱物、一枚の八面体シートを2枚の四面体シートで挟んだ2:1層が何枚も積み重なってできた鉱物を2:1型鉱物、2:1型の層間にもう一枚八面体シートが挟まつたものを2:1:1型鉱物という。また、八面体シートがMg(OH)₂すべての八面体位置に金属イオンが存在するものを3八面体型（Trioctahedral）、八面体シートがA₁(OH)₃で1/3が空孔になっているものを2八面体型（Dioctahedral）という。本発明で用いる層状無機化合物としては、2:1型鉱物が好ましい。

【0092】本発明の層状無機化合物を構成する元素は、好ましくは、リチウム、ナトリウム、カリウム、マグネシウム、アルミニウム、ケイ素、酸素、水素、フッ素、及び炭素から選ばれる少なくとも一つ以上から構成され、具体的には以下に示す式1～9のいずれか一つで表される化合物が挙げられる。尚、これらの式に結晶水が含まれたものでもよい。もちろん、これらの式は鉱物学的又は化学的に純粹な化合物としての式であって、現実の層状無機化合物では、ケイ酸ナトリウムなどの不純物を含む場合があるため、元素分析などによって化学式を定めたものとしても、これらの式と必ずしも一致しない場合があることは、例えば、文献(D. W. Thompson, J. T. Butterworth, J. Colloid Interf. Sci., 151, 236-243(1992))においても記述されていることである。

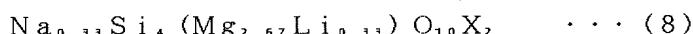
【0093】

【化1】

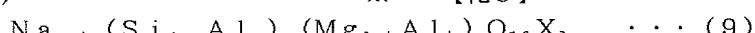


（式1においてMはH、Li、Na、Kのうちいずれかひとつであって、XはOH、Fのいずれかであって、xは2未満の正数である。）

【0094】



（式8において、XはOH、Fのいずれかであって、好ましくはOHである。）



（式9において、XはOH、Fのいずれかであって、好ましくはOHである。aは4未満の正数、bは3未満の正数であって、a-b>0である。）

【0102】本発明の層状無機化合物の具体例としては、カオリナイト、ハロイサイト、蛇紋石等の1:1型粘土鉱物；タルク、パイロフィライト、スメクタイト、バーミキュライト（上記式中、式2で表されるもの、以下同様）、フッ素四ケイ素雲母（式5）やテニオナイト（式6）を含む雲母等の2:1型粘土鉱物；クロライト等の2:1:1型粘土鉱物；2:1～2:1:1型の中

22

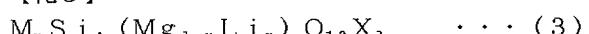
* 【化2】

$$M_x (Si_{4-x} Al_x) Al_2 O_{10} X_2 \dots (2)$$

（式2においてMはH、Li、Na、Kのうちいずれかひとつであって、XはOH、Fのいずれかであって、xは4未満の正数である。）

【0095】

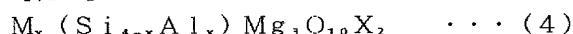
【化3】



（式3においてMはH、Li、Na、Kのうちいずれかひとつであって、XはOH、Fのいずれかであって、xは3未満の正数である。）

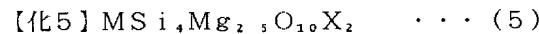
【0096】

【化4】



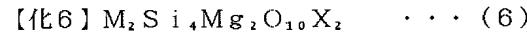
（式4においてMはH、Li、Na、Kのうちいずれかひとつであって、XはOH、Fのいずれかであって、xは4未満の正数である。）

【0097】



（式5においてMはLi、Naのうちいずれかであって、好ましくはNaである。XはOH、Fのいずれかであって、好ましくはFである。）

【0098】



（式6においてMはLi、Naのうちいずれかであって、好ましくはLiである。XはOH、Fのいずれかであって、好ましくはFである。）

【0099】



（式7においてXはハロゲン、NO₃、SO₄、CO₃、OHのいずれかもしくは有機酸のアニオン形であって、好ましくはCO₃である。xはXがハロゲン、OH、NO₃、一価の有機酸のとき2であって、XがSO₄、CO₃、二価の有機酸のとき1である。）

【0100】

* 【化8】



* 【0101】

* 【化9】

間鉱物；イモゴライト等の準晶質粘土鉱物；アロフェン等の非晶質粘土鉱物；ハイドロタルサイト（式7）；等が挙げられる。

【0103】また、スメクタイトには、同型置換された四面体、八面体格子中のイオン種によってモンモリロナイト（式1）、モンモリロナイトが40～80%含まれるペントナイト、バイデライト（式2）等の2八面体型；ヘクトライト（式3、好ましくは式8）、サボナイト（式4、好ましくは式9）、ノントロナイト等の3八面体型；等が含まれる。

【0104】尚、ハイドロタルサイトは、上記式中の式7、具体的には $Mg_6Al_2(OH)_{16}CO_3 \cdot 4H_2O$ で表される層状鉱物であり、 $Mg(OH)_2$ （ブルーサイト：中心に Mg^{2+} を持つ酸素八面体の層が積み重なった構造を持つ）の Mg^{2+} の一部が Al^{3+} に同型置換したものであって正電荷を有するが、層間の CO_3^{2-} によって電気的中性を保っており、陰イオン交換能をもつもので*

<表1>

*ある。ケイ酸塩鉱物ではないが、しばしば粘土鉱物として取り扱われる。

【0105】上述した本発明の層状無機化合物のうちいくつかの組成を下記表1に示す。

【0106】

【表1】

鉱物名	組成*
カオリナイト (Kaolinite)	$Si_2Al_2O_5(OH)_4$
ハロイサイト	$Si_2Al_2O_5(OH)_4 \cdot 2H_2O$
蛇紋石	$Si_2(Mg^{2+}, Fe^{2+})_3O_5(OH)_4$
タルク (Talc)	$Si_4Mg_2(OH)_2O_10$
パイロフィライト (Pyrophyllite)	$Si_4Al_2(OH)_2O_10$
モンモリロナイト (Montmorillonite)	$MI_x Si_4(Al_{2-x}Mg_x)O_10(OH)_2 \cdot nH_2O$
バイデライト (Beidellite)	$MI_x(Si_{4-x}Al_x)Al_2O_10(OH)_2 \cdot nH_2O$
ヘクトライト (Hectorite)	$MI_x Si_4(Mg_{3-x}Li_x)O_10(OH, F)_2 \cdot nH_2O$
サポナイト (Saponite)	$MI_x(Si_{4-x}Al_x)Mg_3O_10(OH)_2 \cdot nH_2O$
ノントロナイト (Nontronite)	$MI_x(Si_{4-x}Al_x)Fe_2O_10(OH)_2 \cdot nH_2O$
バーミキュライト (Vermiculite)	$MI_x(Si_{4-x}Al_x)Al_2O_10(OH)_2 \cdot nH_2O$
ハイドロタルサイト (Hydrotalcite)	$Mg_6Al_2(OH)_{16}CO_3 \cdot 4H_2O$

*: MI は1価陽イオンで代表させた交換性陽イオン

【0107】本発明の層状無機化合物の粒径は、均一な分散が行える程度に小さな粒径であれば特に限定はされない。また、層状無機化合物は一般に板状の粒子であり且つ複数個の粒子が凝集と劈開を繰り返す動的平衡にあるので、平均粒径の定義を行うこと自体が困難であるから、好ましい平均粒径の範囲を明示することは容易ではないが、強いて言及すれば、光散乱法や電子顕微鏡での観察などの手段によって測定された値が、水中に分散させた状態で、1nm以上20μm以下が好ましい。更には10nm以上2μm以下のものが好ましい。

【0108】また、これらはイオン交換能を有することによって色素等の電荷や極性に応じて吸着を行うものと考えられ、イオン交換能は層を構成する金属イオンの置換によって生じた層電荷に由来する。そこで層電荷の絶対値は表1に示した式の組成の原子団について0.2~1程度の値を有することが好ましい。

【0109】また、鉄等の遷移金属イオンを置換イオンとして構造中に又は不純物として含むものは、それによって着色を生じ、また酸化還元特性等を示して副反応を生じる結果、透明性等に劣ることとなるため、遷移金属イオンによる置換がない方が好ましいが、これに限定されるものではない。

【0110】これら粘土鉱物等の層状無機化合物には4級アンモニウム塩などのビラーを立てて層間距離や層間の電荷や極性をあらかじめ調整することもできる。本発

明の上述した層状無機化合物のうち、より好ましいものは2:1型粘土鉱物であり、特に好ましいものはイオン交換能を有する膨潤性粘土鉱物である。また、膨潤性粘土鉱物のうち、更に好ましいものはペントナイト、スマクタイト、バーミキュライトまたは合成フッ素雲母で表される膨潤性合成雲母（又はNa型雲母）等の合成雲母（天然の雲母は通常非膨潤性粘土鉱物である。）であり、特に好ましいものは合成ヘクトライトもしくは合成サポナイト等の合成スマクタイト、または合成フッ素雲母である。これらは単独で用いても、2種以上を併用してもよい。

【0111】尚、膨潤作用は交換性のカチオンまたはアニオンを持つことに由来し、層間あるいはカードハウス構造と呼ばれる層状無機化合物の表面に色素を迅速に吸着するため、膨潤性の層状無機化合物を用いるのが好ましい。粘土鉱物はアニオン性物質、カチオン性物質、非イオン性の極性有機化合物を、ハイドロタルサイトはアニオン性化合物を吸着する。層状無機化合物に吸着可能な化合物は、例えば、H.Van Olphen著の成書「An Introduction to Clay Colloid Chemistry, Second Edition」(Krieger Publishing, Malabar) の11章「Interaction of Clays and Organic Compounds」などに詳述されている。

【0112】本発明の上述した層状無機化合物は、合成物、天然物に限らず使用できるが、好ましくは合成物が

用いられる。合成物は、天然物とは異なり、化学的に均一で吸着した色素等を定量的に取り扱うことが可能であり、更に層間に鉄等の有色の金属を含まず透明度が高いため、定量的、光学的取り扱いが可能だからである。

尚、ここで、「合成」とは、少なくともスメクタイトの場合は、主に水熱合成法又は溶融法によって製造されたものをいう。天然物を精製して得られる膨潤性粘土鉱物も好ましく用いられる。

【0113】このような層状無機化合物はいくつか市販されており、たとえばコーブケミカル（株）製の商品名ルーセンタイト SWN もしくはルーセンタイト SWF（合成ヘクトライト）または ME（フッ素雲母）、クニミネ工業（株）製の商品名スメクトン SA（合成サボナイト）、協和化学工業（株）製の商品名チキソピー W（合成ヘクトライト）または商品名キヨーワード 500（合成ハイドロタルサイト）、ラボー社製の商品名ラボナイト（合成ヘクトライト）、（株）ナカライトテスク社販売の天然ベントナイト、（株）豊順鉱業社製の商品名マルチゲル（ベントナイト）等が挙げられる。

【0114】上述した層状無機化合物は、アミン、ポリエン、各種色素など有機化合物を吸着することが知られており、従来、油、色素などを吸着する水処理剤、ワインやみりん等の製造時の蛋白除去剤、不純物吸着除去による脱色精製剤等として用いられてきた。また、これら層状無機化合物は、メタクロマジーと呼ばれる現象を生じるなど、特定の反応場を与える素材として知られており、更に、最近では天然色素の光安定性を向上させることも知られている。

【0115】しかしながら、本発明においては、この層状無機化合物を分析用試験片の検出層又は検出領域等の検出部に含有させて、試薬の反応により生成される色素等と吸着させることによって、色素等が試料液や反応液等により拡散・溶出されるのを抑制することができるを見出したものである。このように層状無機化合物が色素等の拡散・溶出を抑制するという効果を利用して試験片に含有させることはこれまで試みられていない。

【0116】更に、驚くべきことに、反応層等に前記層状無機化合物を添加しても、検出反応は妨害されない。よって、この層状無機化合物の添加によって、例えば前記 4-AA と水素供与体を用いる反応系等を利用した検査を、より正確に、そして溶出を気にせずに簡便に行うことができるのである。

【0117】試験部のうちの層状無機化合物を含有する部分は、好ましくは多孔質構造体であり、材質は特に限定されないが、主として層状無機化合物によって形成されているか、又は、主として親水性ポリマー、メンブランフィルター、ろ紙や布、ガラスフィルターなどの繊維集合体、セルロース又は珪藻土などの有機化合物もしくは無機化合物の微粉末からなる群から選ばれる少なくとも 1 種の多孔質形成素材と層状無機化合物とによって形

成されているのが好ましい。

【0118】層状無機化合物によって形成されている多孔質構造体としては、主として、層状無機化合物のゾル、ゲル、凝集体、凝結体、又はそれらを乾燥あるいは焼結した多孔質体が挙げられる。多孔質構造体には後述する緩衝剤などを添加してもよい。例えば層状無機化合物の 1% 分散液の一滴を支持体上に滴下してキャストした後、凍結乾燥することで、吸水性のよい多孔質層を得ることができる。

10 【0119】支持体はシート状であっても管状又は棒状であってもよく、材質は特に限定されず、ろ紙、不織布、布、ガラスフィルターなどの繊維集合体；ガラスピーズ、ポリマーピーズ、二酸化チタンなどの粒状物質；セルロース、珪藻土、可溶性塩類や疎水化多糖類などの粉末、などの粒状物質又は微粉末；メンブランフィルター；ポリエチレンレフタレート（PET）やポリスチレンなどのプラスチックプレート等の有機高分子；等であってもよい。また、更に好ましくは親水性ポリマーからなるゲル、表面を親水化処理したメンブランフィルター又はプラスチックプレートが挙げられる。

20 【0120】親水性ポリマーとしては、ポリエチレンオキシド、ポリプロピレンオキシド等のポリアルキレンオキシド；カルボキシメチルセルロース、ヒドロキシエチルセルロースなどのセルロース誘導体；ゼラチンおよびその誘導体（例えばフタル化ゼラチンなど）；その他多糖類およびその誘導体（アガロース、カラゲーナン、キチン、キトサンなど）；ポリビニルアルコール；ポリビニルピロリドン；ポリアクリル酸塩類（ポリアクリル酸ナトリウム等、およびそれらのマレイン酸との共重合体等）；ポリアクリルアミド；ポリメタクリル酸類（ポリヒドロキシエチルメタクリル酸等）；メタアクリルアミド；ポリスルホン；ポリイミド；ポリスチレン；ポリカーボネート；ポリエーテルエーテルケトン；ポリオキシメチレン；アルギン酸ナトリウム；親水処理された（例えば紫外線照射やシラノール処理によって親水化された）ポリエチレン、ポリプロピレン、ポリフルオロエチレン等のポリオレフィン系樹脂；などの化学構造を含む重合体、共重合体、会合体等が挙げられる。

30 【0121】また、前記親水性ポリマーは、架橋剤によるグラフト化、疎水的親和性による会合などによるネットワーク構造を持ち、水に不溶であるものが好ましい。このような親水性ポリマーの具体例としては、グルタルデヒドで架橋されたポリリジン、ポリエチレンオキサイド架橋生成物、ポリアクリルアミドグラフトポリマー、ポリアクリル酸塩グラフトポリマー、デンプン-アクリル酸塩グラフトポリマー等が挙げられる。

40 【0122】また、親水性ポリマー、メンブランフィルター、繊維集合体、及び有機化合物もしくは無機化合物の微粉末からなる群から選ばれる少なくとも 1 種の多孔質形成素材と層状無機化合物とがともに試験部に含有さ

れ、前記多孔質構造体を形成していくてもよい。このような多孔質構造体を形成させる方法としては、あらかじめ多孔質構造体形成素材と層状無機化合物の混合液を調製しておき、前述の支持体にキャスト又は含浸させる方法、または、あらかじめ多孔質構造体形成素材を用いて多孔質膜など多孔質の支持体を作製しておき、層状無機化合物の分散液又は前記混合液を、その多孔質の支持体にキャスト又は含浸させる方法等が挙げられる。

【0123】多孔質構造体の製造時に層状無機化合物を混合する場合は、例えば親水性ポリマーや微粉末等とともに混練し同時に製膜する方法等がある。また、層状無機化合物を、後述する緩衝剤に溶解又は分散させた緩衝溶液を乾燥させ、この乾燥物を原料に混合することもできる。

【0124】また、層状無機化合物の分散液又は混合液を多孔質の支持体に含浸させる方法の場合、用いる溶媒の種類は特に限定されず、従来公知のものを任意に使用することができるが、例えば蒸留水などの水、エタノールなどのアルコール、アセトンなどのケトン類、ジエチルエーテルなどのエーテル類、酢酸エチルなどのエステル類、クロロホルムなどのハロゲン化炭化水素類、ベンゼンやトルエンなどの芳香族炭化水素類などから、利用する検出反応系等に適したものを見つけることができる。好ましくは、後述する緩衝剤を用いて緩衝剤に溶解または分散させた緩衝溶液を含浸させるのがよい。溶液または分散液の濃度は、反応系等に応じて適宜選択することができ、特に限定されない。

【0125】次に、層状無機化合物を含有する層又は領域の作製方法を例示する。層状無機化合物を含有する層又は領域を作製するとき、前記層状無機化合物のゾル、ゲル、凝集体、凝結体を乾燥又は焼結した多孔質構造体を用いることができる。例えば、層状無機化合物の1%分散液の一滴をプラスチックシート上にキャストした後、凍結乾燥することで、吸水性のよい多孔質層を得ることができる。

【0126】また、上述した親水性ポリマー、メンブランフィルター、纖維集合体、及び有機もしくは無機微粉末からなる群から選ばれる少なくとも1種の多孔質構造体形成素材を作製に用いることができる。

【0127】親水性ポリマーとしては、ゼラチン、ポリアクリル酸又はその誘導体、ポリアクリルアミド、ポリビニルアルコール、ポリビニルピロリドン、ポリエチレングリコール、多糖類又はその誘導体などが特に好ましい。親水性ポリマーはゲル又はゲルの乾燥体として用いてよい。親水性ポリマーは、既知の架橋剤の添加などによって架橋度を調節したゲルであってもよい。これらを単独で、或いは組み合わせて用いることができる。

【0128】前記素材と層状無機化合物とを複合した多孔質構造体を得るには、層状無機化合物を試験部に含みさせる方法において既に述べた種々の方法を用いること

ができる。例えば、緩衝溶液に分散させた層状無機化合物の1%分散液をろ紙に含浸させ、温風乾燥するという処方で多孔質の領域を得ることができる。またそのろ紙の小片を、例えばプラスチックシートの上に貼り付ければ多孔質層を得ることができる。また例えば、次に述べる手順を用いることができる。層状無機化合物の3%分散液に、重量比で1:1から4:1となるように調製した所定濃度のポリアクリルアミドの水溶液の同量を混合し、数時間よく攪拌する。必要であれば炭酸ナトリウムあるいは酢酸などの希薄水溶液を加えることによって、混合液のpHを約5~9の間に調整する。また、必要であれば混合液をアルカリ性にし、N,N-メチレンビスアクリルアミドを2%となるように加え、電子線を照射して架橋反応を起こさせてもよい。こうして得られた混合液をプラスチック板の上に塗布し、乾燥させれば多孔質膜を得ることができる。

【0129】こうして作製された層状無機化合物を含有する多孔質構造体は、特に吸水性に優れており、試験片の試験部として好ましく用いられる。もちろん、試験部の作製例はここに述べた例に限られるわけではない。例えば、種々の公知の試験片の試験部の作製例を応用することができる。そのような試験片は、例えば、H.G.Curme, et al., Clinical Chemistry, 24(8), 1335-1342(1978)、B.Walter, Analytical Chemistry, 55(4), 498A(1983)、近藤朝士「ふんせき」1984(7), 534、R.F.Zuk, et al., Clinical Chemistry, 31(7), 1144-1150(1985)、近藤朝士「ふんせき」1986(6), 387、特開平2-6541(K.Hildenbrand)、M.P.Allen, et al., Clinical Chemistry, 36(9), 1591-1597(1990)、特開平3-163361(E.J.Kiserら)、分析化学便覧第8頁(日本分析化学会編:改訂4版、丸善(1991))、D.Noble, Analytical Chemistry, 65(23), 1037A(1993)、特開平5-157745(真鍋秀彦ら)、特開平6-213886(北島昌夫ら)、特開平6-222061(H.Brandtら)等の文献に記載されている。

【0130】層状無機化合物の分散液の濃度や親水性ポリマーとの混合比や調整すべきpHの値は、層状無機化合物の種類、吸着させようとする色素の種類、用いる親水性ポリマーの種類と量、緩衝剤の種類と量、混合液の粘度などをバラメーターとして、必要とする多孔性の程度、多孔質層の膜厚、試験部の機械的強度等を得られるように適した条件を選べばよい。

【0131】以上のように作製した多孔質構造体中に、試料液中の分析対象物質と反応し検出可能な物質を生成する試薬を添加することによって、該多孔質構造体を試験片の反応部として使用することができる。

【0132】層状無機化合物の添加量は、利用する反応系に応じて決定され、用いる層状無機化合物にもよるが、生成物質に対して吸着サイトが少な過ぎて生成物質が吸着されずに溶液中等に残ったり、吸着サイトが多す

きて生成物質の吸着に濃度の偏りが生じたりすることのない量が望ましい。

【0133】反応系に添加する層状無機化合物の好ましい量は以下のように決定する。即ち、層状無機化合物は、主として前述の層電荷の程度に応じた量の色素等を吸着するので、各種の層状無機化合物について色素等に対する全吸着サイト数を求めることができる。検出反応系において試薬の濃度が定まれば生成する色素等のおおよその最大量が算出できるので、層状無機化合物の全吸着サイト数を生成しうる色素等の最大量が越えないようにして、適した量の層状無機化合物を添加することができる。

【0134】吸着の度合いは緩衝剤の組成 (pH、イオン強度、錯体を形成する成分等) に影響される。例えば、純水に分散させたスメクタイトは食用色素青色一号 (ブリリアントブルー FCF) を吸着しにくいが、pH 6.5 のビストリス緩衝液 [ビス(2-ヒドロキシエチル)イミノトリス(ヒドロキシメチル)メタンと塩酸から調製されたもの] 中に分散させたスメクタイトはこの色素を迅速に吸着する。

【0135】したがって、緩衝剤の組成、濃度又は pH を変化させることで、あるいは層状無機化合物への吸着において色素等と競合しうる化合物などの添加量を変化させることで、望ましい吸着の程度に調整することができる。前記競合しうる化合物としては、金属イオン、有機アミン類、カルボン酸類、リン酸塩などが挙げられ、また界面活性剤、可溶性ポリマーなども使用できる。

【0136】本発明に用いる緩衝剤、緩衝溶液の種類は、例えば上述したビストリス緩衝液の他、リン酸緩衝溶液、クエン酸緩衝溶液、N-(2-アセトアミド)イミノ二酢酸緩衝液等が挙げられるが、これらに限定されるものではなく、用いる反応系に応じて適宜選択するのが好ましい。また、緩衝剤の pH、濃度等については、用いる反応系に適した条件を選択することが好ましい。

【0137】緩衝剤の添加方法は特に限定されないが、層状無機化合物を溶解もしくは分散させた緩衝溶液として、またはその乾燥物として層状無機化合物と共に含有させることができる。

【0138】また、試験片の製造にあたり、層状無機化合物の分散液において、半透明のコロイド状の凝集が生じる場合があるが、この凝集体は分散液を攪拌することによって均一に再分散する。また、特に凝集が不都合であるときには、リン酸塩系の緩衝溶液を用いれば層状無機化合物の分散性が向上するので、凝集の発生を抑制することができる。

【0139】また、種々の界面活性剤を試験部に含有させることもできる。界面活性剤の添加により、支持体上に試験部等をコーティングする性能等が向上する。ただし、界面活性剤は、界面に吸着する、物質を分散・溶解

する等の作用があるため、生成した検出可能な物質の層状無機化合物への吸着と競合し、あるいは生成した検出可能な物質の溶解をもたらすことによって、本発明の効果を損なわしめるおそれがある。したがって、本発明において層状無機化合物と組み合わせて用いる界面活性剤としては、生成した検出可能な物質と層状無機化合物との吸着を妨害しないものを選択するのが好ましい。また、界面活性剤の使用量についても、このような妨害が生じない程度の少量を用いるのが好ましい。

10 【0140】吸着を妨害しない界面活性剤の種類としては、界面活性剤の分子量が生成する色素に比べて極端に大きくないものであり、且つ界面活性剤の有機性値と無機性値が下記式を満足するものが好ましい。

【0141】

$$\text{【数1】} (\text{無機性値}) = (2.37 \pm 0.23) \times (\text{有機性値}) - 186.2 \pm 117.1$$

【0142】上記式は、既知の構造の種々の界面活性剤について吸着阻害効果と無機性値及び有機性値との関係を検討して得られたものである。すなわち、炭素一個の

20 有機性値を 20、水酸基の無機性値を 100、ポリエチレンオキシドの有機性値を 30、その無機性値を 60、ニトロ基の有機性値を 70、その無機性値を 70、などのように官能基や原子ごとにポイントを割り振り、化合物を構成する官能基、原子についてこれらのポイントを合計して無機性値の総和及び有機性値の総和をとり、この無機性値と有機性値とを直交座標にプロットすると、似た性質の化合物は直交座標の同じ領域に位置づけられるので、化合物の構造によらない共通の性質が現れることが有機概念図として知られている（甲田善生、「有機

30 概念図－基礎と応用－」第 11 頁、三共出版(1984)）。本発明者らは、既知の構造を有する多くの界面活性剤について吸着阻害効果と無機性値及び有機性値との関係を検討し、吸着を阻害しない界面活性剤の種類が有機概念図において上記式を満足することを見出したものである。なお、無機性値、有機性値の算出には、前述の有機概念図に関する成書中の換算データを用いることができるが、前述の式 (数 1) は、本間善夫作製のプログラム「パソコン有機概念図」（化学ソフトウェア学会等）中の換算データを用いて得たものである。

40 【0143】吸着を妨害しない界面活性剤の種類と添加量の選択は、例えば次の (イ) ~ (ニ) のように実施することができる。

【0144】(イ) 所定量のスメクタイト、4-AA、及び N-エチル-N-(2-ヒドロキシ-3-スルホプロピル)-3,5-ジメトキシアニリンを含む反応液に過酸化水素を加え発色させる。

(ロ) (イ) と同じ組成の反応液に更に所定の濃度となるように界面活性剤を加え、同様に過酸化水素を加え発色させる。

50 (ハ) スメクタイトを自然沈降、遠心分離、ろ別などの

適当な手段で分離し、上澄み液またはろ液の色調を分光光度計等で測定して、(イ)、(ロ)のそれそれにおけるスメクタイトへの生成色素の吸着量を比較する。あるいは、吸着による凝集が観察される場合には、凝集沈殿の程度をもって評価する。

(二) 界面活性剤を添加しないときと添加したときでほとんど差が見られない界面活性剤の種類と添加量を選択する。

【0145】このような方法で選択された好ましい界面活性剤の種類としては、n-オクチル- β -D-グルコピラノシドなどの糖アルキルエーテル類、n-オクチル- β -D-チオグルコピラノシド、n-ヘプチル- β -D-チオグルコピラノシドなどの糖アルキルチオエーテル類、n-オクタノイル-N-メチルグルカミド、n-ノナノイル-N-メチルグルカミドなどの糖アミド類、 β -D-フラクトピラノシリ- α -D-グルコピラノシドモノデカノエート、 β -D-フラクトピラノシリ- α -D-グルコピラノシドモノデカノエートなどの糖エステル、N, N-ビス(3-D-グルコナミドプロビル)デオキシコラミドなどが挙げられる。

【0146】また、添加量としては特に限定されず、層状無機化合物全量に対する添加の割合も特に限定されるわけではない。界面活性剤の種類と層状無機化合物の種類と反応系に適した量を選べばよく、たとえば支持体へキャストするときなどに界面張力の低下効果が発揮されるのに十分な量でありかつ最小限となる量を実験的に求*

<表2>

試薬	終濃度
POD	1 U/mL
4-AA ^{*1}	2 mmol/L
E H S D A ^{*2}	2 mmol/L
ビストリス緩衝液 ^{*3}	100 mmol/L
過酸化水素	100 μmol/L (全量 3 mL)

*1) 4-アミノアンチビリン(4-アミノ-1,2-ジヒドロ-1,5-ジメチル-2-フェニル-3H-ビラゾール-3-オン)

*2) N-エチル-N-(2-ヒドロキシ-3-スルホプロピル)-3,5-ジメトキシアニリン

*3) ピ'ス(2-ヒドロキシエチル)イミノトリス(ヒドロキシエチル)メタン

【0150】尚、使用した試薬は各々下記表3に示す通りである。

※ 【0151】

※ 【表3】

<表3>

試薬	試薬濃度	メーカー	試薬純度
POD	30 U/mL	東洋紡(株)	
4-AA	60 mmol/L	和光純薬(株)	試薬特級
E H S D A	60 mmol/L	S I G M A	
ビストリス	0.25 mmol/L	ナカライトスク(株)	Specially

緩衝液

スメクタイト
過酸化水素

1% コープケミカル(株)
三徳化学工業(株)

Prepared
試葉特級

【0152】得られた直径、面積及びスポットの色調を表4に示す。また、発色液が拡散したろ紙の様子を表す模式図を図1に示した。

* 【0153】
【表4】

*

<表4>

	直径 (mm)	面積 (mm ²)	色 調
スメクタイト含浸ろ紙	7~8	44	青紫
未処理のろ紙	20~22	350	青

【0154】スメクタイト分散液を含浸させたろ紙では、未処理のろ紙と比較して色素の拡散が抑えられ、スポットが小さくなつた（面積にして約1/8）。しかし、発色液のうち色素を除かれた無色の部分は未処理のろ紙と同程度に拡散した。このことから、色素が選択的にろ紙中のスメクタイトと吸着したことが確かめられた。

【0155】また、スメクタイトに含浸したろ紙では未処理のろ紙より、そのスポットの色調が濃いこと、及び色調の短波長側へシフトしたことが目視で観察された。更に、このスメクタイトに含浸したろ紙を水洗しても色素は溶出しなかつた。

【0156】スメクタイトをろ紙に添加することにより、色素はろ紙上に吸着され、これによって色素の拡散が防止され、溶出も防止されることがわかつた。したがつて、本発明による試験片を用いれば、生成した色素が移動したり溶出したりせず、測定の精度と感度を向上させることができることがわかる。また、試験部の乾燥による色素の濃縮や移動がなく、試験片を試料液中に付けてたまにしたりしても生成色素の溶出がないので、測定を簡便に実施することができるがわかる。

【0157】

【実施例2】尿試験紙（尿中の亜硝酸塩、ブドウ糖、潜血、ビリルビン、ウロビリノーゲンを測定する多項目試験紙：市販的一般的な試験紙で、対応する各試葉をろ紙に含浸させて試験部とし、校正用の試験部と共にプラスチックフィルムに貼り付けたもの）を一般的な処方で作製したコントロール尿中に浸漬し、ただちに引き上げ、呈色が観察されるまで約30秒放置した後、実施例1で用いたものと同じスメクタイト含浸ろ紙片をその上に押しつけ、色素をスメクタイト含浸ろ紙片に移した。ろ紙片上の色素のにじみを目視観察した。また、このろ紙片を水道水の流水でよく洗净し、色落ちの様子を目視観察した。

【0158】対照としてスメクタイトで処理していない東洋漉紙No. 2及び同No. 131の二種類のろ紙を

用いて同様の操作を行つた。

【0159】各試験の測定方法及び処方は以下の通りである。また、結果を下記表5に示す。

【0160】・亜硝酸塩試験：グリース法

4-アミノベンゼンアルソン酸を酸性条件下、亜硝酸塩と反応させてジアゾニウム塩を生成させ、N-1-ナフチルエチレンジアミン二塩酸塩とカップリングしてアゾ色素を生成させる。処方としては、一枚のろ紙にN-1-ナフチルエチレンジアミン二塩酸塩0.26mg及び4-アミノベンゼンアルソン酸0.57mgを含浸して100分割し、その一枚を試験部とした。一枚で約6μlの溶液を吸収した。

【0161】・グルコース試験：グルコースオキシダーゼによって発生した過酸化水素を、ペルオキシダーゼの触媒作用で、発色指示薬（テトラベースとグアヤク脂、

それぞれ色原体）と反応させて酸化発色させる。処方としては、一枚のろ紙にグルコースオキシダーゼ470IU、ペルオキシダーゼ219PU、テトラベース13.0mg、及びグアヤク脂4.3mgを含浸して100分割し、その一枚を試験部とした。一枚で約6μlの溶液を吸収した。

【0162】・潜血試験：ヘモグロビンによるクメンハイドロパーオキシドの分解と、発生する活性期の酸素によるオルトトリジンの酸化発色を利用した方法であり、オルトトリジンの代わりにベンジジン類（3,3',5,5' - テトラメチルベンジジンなど）を用いても同様の効果が期待できる。処方としては、一枚のろ紙にクメンハイドロパーオキシド52.6mg及びオルトトリジン7.6mgを含浸して100分割し、その一枚を試験部とした。一枚で約6μlの溶液を吸収した。

【0163】・ビリルビン試験：酸性条件下で、ジアゾ試薬である2-メチル-5-ニトロアニリンまたはスルファニル酸と亜硝酸ナトリウムからジアゾニウム塩が生じ、ジアゾニウム塩がダイフィリンの存在下ビリルビンとカップリングしてアゾビリルビンを生成する反応を利用した方法であり、処方としては一枚のろ紙に2-メチ

ル-5-ニトロアニリン3.8mg、亜硝酸ナトリウム2.1mg、及びダイフィリン若干量を含浸して100分割し、その一枚を試験部とした。一枚で約6μlの溶液を吸収した。

【0164】・ウロビリノーゲン試験：酸性条件下で3,3'-ジメトキシビフェニル-4,4'-ジアゾニウム四フッ化ホウ素塩とアゾカップリングする反応を利用*

<表5>

試験	色素のにじみ			洗浄による色落ち		
	スメクタイト 含浸	未処理 No.2	No.131	スメクタイト 含浸	未処理 No.2	No.131
亜硝酸塩試験	○	×	×	○	×	×
グルコース試験	○	×	×	○	×	×
潜血試験	○	×	×	○	×	×
ビリルビン試験	○	×	×	○	×	×
ウロビリノーゲン試験	○	×	×	○	×	×

色素のにじみ ・・・ ○：にじみなし ×：かなりにじみあり

洗浄による色落ち ・・・ ○：色落ちせず ×：かなり色落ちあり

【0166】表5の結果に示すように、層状無機化合物を含浸したろ紙は、色素がにじまずに吸着し、洗浄によっても色落ちしなかった。したがって、層状無機化合物を含浸したろ紙では色素の拡散が抑制され、溶出も防止されることがわかった。よって、本発明による試験片は、生成した色素が移動したり溶出したりせず、測定の精度と感度の向上が期待できる。また、試験部の乾燥による色素の濃縮や移動がなく、また試験片を試料液中に浸けたままにしても生成色素の溶出がないので、測定を簡便に実施することができる。さらに、多項目試験片では生成した色素が隣接する試験部を汚染することがなくなるので、試験部間の幅を狭めて試験片を小型化することが可能である。

【0167】また、生成色素を未処理のろ紙に染み込ませた状態で遮光せずに室温で空気暴露しておいたところ、変色と退色が観察され、約1ヶ月後には反応直後とは全く異なった呈色状態になったが、一方、層状無機化合物を含有したろ紙に吸着された生成色素は、遮光せずに室温で空気暴露しても、少なくとも3ヶ月間は色調の変化や退色がみられなかった。

【0168】以上の事実は、本発明の試験片を用いれば、例えば患者宅で試料を採取して試験片上で反応呈色させたのち呈色済み試験片を遠隔地の検査センターまで郵送するような場合でも、反応呈色直後と同じ測定結果が得られるなど、本発明の応用性を示す。すなわち、本発明の試験片は呈色が安定であり、乾燥による色素の濃縮や水漏れによる溶出もないで、このような郵送用の試験片としても利用可能である。

*用したものであり、処方としては、一枚のろ紙に3,3'-ジメトキシビフェニル-4,4'-ジアゾニウム四フッ化ホウ酸塩0.36mgを含浸して100分割し、その一枚を試験部とした。一枚で約6μlの溶液を吸収した。

【0165】

【表5】

【0169】

【実施例3】紫外線処理をしたポリエチレンテレフタート（PET）フィルム上に、下記表6に示す通りに調製した溶液を、ドクターナイフを用いて、膜厚100μmで塗工し、乾燥した。この塗工膜をPETフィルムごと1cm角に切断し、ガラスで図3のように500μm程度の空間をあけて挟み、反応セルを作製した。この反応セルの模式図を図3に示す。

【0170】この反応セルへ、過酸化水素2mmol/Lを添加し、そのときの発色の様子を観察した。また、スメクタイトを添加しなかった他は同様にして調製した溶液を用いて、同様に反応セルを作製し、発色の様子を観察した。

【0171】

【表6】<表6>

試葉	終濃度
P O D	1 U/mL
4 - A A	2 mmol/L
E H S D A	2 mmol/L
ピーストライス緩衝液	100 mmol/L
スメクタイト ^{**1}	0.3%
H P C - M ^{**2}	1%

^{**1}ルーセンタイトSWN(合成スメクタイト:コープケミカル社製)

^{**2}ヒドロキシエチルプロピルセルロース

【0172】スメクタイト無添加の塗工膜では膜中から

生成色素の溶出が観察されたのに対し、スメクタイトを添加した場合は、生成色素の溶出は観察されなかった。

【0173】

【実施例4】多孔質構造体の検出層を有する本発明の試験片の作製处方の例を示す。この試験片の模式図を図4に示す。

【0174】ろ紙(Whatman社製、2Ch r)を、下記表7に示す通りに調製した酵素GOD(グルコースオキシダーゼ)とPOD(ペルオキシダーゼ)を含む試薬溶液に浸漬し、40°Cで30分間乾燥させた。このろ紙を5mm×5mmに切断し、5mm×100mmの白色のプラスチックフィルムの一端に両面テープを用いて貼り付け、前記ろ紙を試験部とする試験片を作製した。

【0175】

【表7】<表7>

試薬	終濃度
GOD	100U/mL
POD	100U/mL
4-AA	5g/L
E H S D A	3g/L
リン酸緩衝液(pH7.0)	0.1mol/L
スメクタイト	1%

【0176】この試験片においては、血漿の6μlをピペットで試験部に点着するか又はコップに採取した尿に本試験片を浸漬し、反応を進行させた後、検出層の発色の強度を反射率計などで測定して血漿又は尿中のグルコース濃度を測定することができる。本発明における層状無機化合物を含む多孔質構造の層は、本実施例の試験片においては、試料吸入層と試薬層と反応層を兼ねた検出層として利用することができる。

*

<表9>

試薬	終濃度
ビストリス緩衝液(pH6.5)	0.1mol/L
スメクタイト	1%

【0181】この試験片においては、キュベットに取った血漿又はコップに採取した尿に本試験片の試料吸入領域を浸漬する。試料液が試料吸入領域、拡散領域を通過し、反応領域に到達して試薬と混合して反応した反応液となり、反応時間を調整する領域と保持領域を通過した後、試験片を引き上げる。保持領域における呈色の強度を反射率計などで測定して、血漿又は尿中のグルコース濃度を測定する。

【0182】本発明による層状無機化合物を含む多孔質構造は、この例の試験片において反応液中の検出可能な

* 【0177】

【実施例5】本発明の多孔質構造の検出領域を有する試験片の作製方法の例を示す。この試験片の模式図を図5に示す。

【0178】ろ紙(Whatman社製、2Ch r)を、下記表8に示す通りに調製した酵素GOD(グルコースオキシダーゼ)とPOD(ペルオキシダーゼ)を含む試薬溶液に浸漬し、40°Cで30分間乾燥させた。このろ紙を5mm×5mmに切断し、5mm×100mmの別のろ紙(Whatman社製、2Ch r)の所定の位置(図5の反応領域)に圧着によって接合する。次に、新たなるろ紙(Whatman社製、2Ch r)を、下記表9に示すとおりに調製した層状無機化合物の分散液に浸漬し、室温で自然乾燥させる。このろ紙を5mm×5mmに切断し、先に反応領域を設けた5mm×100mmのろ紙(Whatman社製、2Ch r)の所定の位置(図5の保持領域)に圧着によって接合する。こうして作製した試験片は、試料吸入領域、拡散領域、反応領域、検出可能な物質を吸着する保持領域、余分な試料を吸収する領域とを備えており、検出領域は保持領域となっている。

【0179】

【表8】<表8>

試薬	終濃度
GOD	100U/mL
POD	200U/mL
4-AA	5g/L
E H S D A	3g/L
リン酸緩衝液(pH7.0)	0.1mol/L

【0180】

【表9】

試薬	終濃度
ビストリス緩衝液(pH6.5)	0.1mol/L
スメクタイト	1%

物質(色素)を吸着する保持領域を兼ねた検出領域として利用できる。

【0183】

【発明の効果】本発明の試験片によれば、色素等が拡散・溶出しにくく、より高感度かつ正確で簡便な分析が可能となる。

【図面の簡単な説明】

【図1】本発明の実施例1におけるスメクタイト含浸ろ紙上の色素の拡散状態を表す模式図である。

【図2】本発明の実施例1における未処理ろ紙上の色

素の拡散状態を表す模式図である。

【図3】 本発明の実施例3における反応セルの模式図である。

【図4】 本発明の実施例4における試験片の模式図である。

【図5】 本発明の実施例5における試験片の模式図である。

【符号の説明】

- 1 … 色素のスポット
- 2 … 色素を除かれた発色液
- 3 … ガラス
- 4 … 塗工膜

* 5 … P E T

6 … 試葉を含浸させたろ紙（検出層）

7 … 両面テープ（接着層）

8 … 層状無機化合物の分散液を含浸させたろ紙

9 … 試葉を含浸させたろ紙

10 … ろ紙

11 … 試料吸込領域

12 … 拡散領域

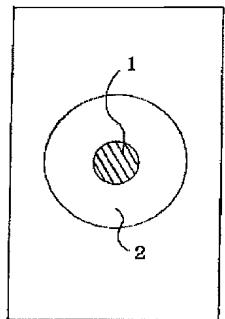
13 … 反応領域

10 14 … 反応時間を調整する領域

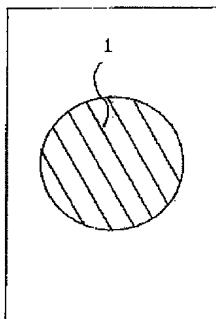
15 … 保持領域

* 16 … 余分な試料などを吸収する領域

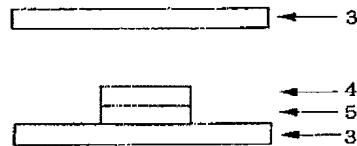
【図1】



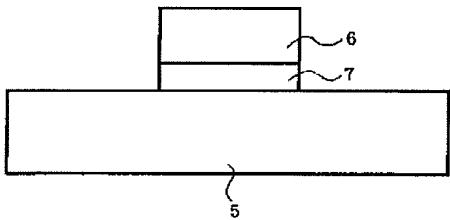
【図2】



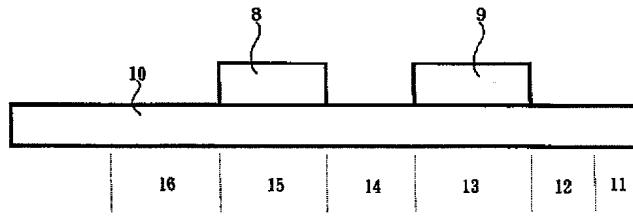
【図3】



【図4】



【図5】



* NOTICES *

JPO and NCIPPI are not responsible for any damages caused by the use of this translation.

1. This document has been translated by computer. So the translation may not reflect the original precisely.
2. **** shows the word which can not be translated.
3. In the drawings, any words are not translated.

CLAIMS

[Claim(s)]

[Claim 1] The test piece which is equipped with the trial section which is a test piece for analysis for measuring said quality of an analysis object by measuring the detectable matter which the quality of an analysis object and the reagent in a sample react, and is generated, and has a detecting element for detecting the matter in which said detection is possible one or more, and contains a stratified inorganic compound in said detecting element at least.

[Claim 2] The test piece according to claim 1 which is equipped with the trial section containing the detection layer for detecting the matter detectable as a detecting element which consists of two or more layers one or more, and contains a stratified inorganic compound in said detection layer at least.

[Claim 3] The test piece according to claim 2 characterized by a sample being spread through said diffusion layer and making it reach said detection layer including a diffusion layer for said trial section to diffuse a sample further.

[Claim 4] The test piece according to claim 1 which is equipped with the trial section which has a detection field for detecting the matter detectable as a detecting element one or more, and contains a stratified inorganic compound to said detection field at least.

[Claim 5] The test piece according to claim 4 characterized by said trial section having a diffusion field for diffusing said sample further, and a sample being spread through said diffusion field, and making it arrive at said detection field.

[Claim 6] The test piece according to claim 4 or 5 with which said detection field consists of two or more layers containing the detection layer for detecting the detectable matter.

[Claim 7] The test piece according to claim 1 to 6 which said trial section has the reaction section for the quality of an analysis object and the reagent in a sample to react further, and is characterized by generating the matter in which said detection is possible in said reaction section.

[Claim 8] The test piece according to claim 7 characterized by preparing said detecting element in the location after spreading a sample and passing said reaction section.

[Claim 9] The test piece according to claim 1 to 6 with which the matter in which said detection is possible is characterized by generating by the reaction of the quality of an analysis object in a sample, and a reagent in said detecting element.

[Claim 10] The test piece according to claim 1 to 9 which is what the part containing the stratified inorganic compound in said test piece becomes from a vesicular structure object.

[Claim 11] The test piece according to claim 10 currently formed with at least one sort chosen from the group in which said vesicular structure object is formed with said stratified inorganic compound or, which it becomes from the impalpable powder of a hydrophilic polymer, a membrane filter, the fiber aggregate and an organic compound, or an inorganic compound, and said stratified inorganic compound.

[Claim 12] The test piece according to claim 1 to 11 whose stratified inorganic compound is a 2:1 mold clay mineral.

[Claim 13] The test piece according to claim 12 whose 2:1 mold clay mineral is a bloating tendency stratified clay mineral.

[Claim 14] The test piece according to claim 13 with which a bloating tendency stratified clay mineral is chosen from a bentonite, a smectite, a vermiculite, and a synthetic fluorine mica and which is a kind at least.

[Claim 15] The test piece according to claim 14 whose smectite is a synthetic smectite [claim 16] The test piece according to claim 15 which is chosen from the group which a synthetic smectite becomes from hectorite and saponite and which is a kind at least.

[Claim 17] The test piece according to claim 1 to 16 which the reagent contains in said trial section.

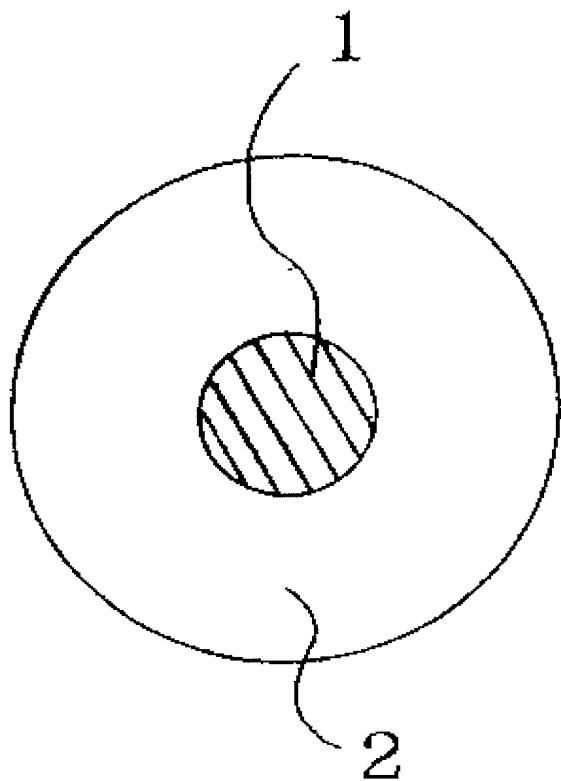
[Claim 18] The test piece according to claim 17 contained in said trial section by adding the reagent solution in which the reagent dissolved the reagent before addition of the sample to the trial section, and/or after addition.

[Claim 19] The test piece according to claim 1 to 18 with which a buffer or its dry matter is further contained in the part containing a stratified inorganic compound.

[Claim 20] The test piece according to claim 1 to 19 which is that to which a reagent reacts to with the quality of an analysis object, and can generate the matter detectable [with optical means].

[Claim 21] The test piece according to claim 20 whose matter detectable [with optical means] is water solubility.

[Translation done.]



* NOTICES *

JPO and NCIP are not responsible for any damages caused by the use of this translation.

- 1.This document has been translated by computer. So the translation may not reflect the original precisely.
- 2.**** shows the word which can not be translated.
- 3.In the drawings, any words are not translated.

DETAILED DESCRIPTION

[Detailed Description of the Invention]

[0001]

[Field of the Invention] This invention relates to the dry-type test piece for detecting and measuring the quality of an analysis object in a liquid. In detail, this invention relates to the test piece to which diffusion and elution, such as coloring matter, were controlled, the sensibility and precision of detection and measurement were raised, and handling was closed if .

[0002]

[Description of the Prior Art] The test piece for inspecting and analyzing the component in liquids, such as urine, usually consists of the trial section which is the functional part which bears a series of analysis processes, such as absorption of a sample solution, diffusion, a reaction, and detection, and a supporter which supports the trial section, and has a sensor, a sample solution inhalator, etc. if needed further. Said trial section consists of parts which bear further various functions, such as a layer and a field. And generally The diffusion osmosis section for making homogeneity permeate and diffuse the sample inhalation section for inhaling a sample solution and introducing into trial circles, and a sample solution in the trial department, The reaction section which reactions containing the quality of an analysis object contained in a sample and the reagent which reacts, such as the reagent section and a detection reaction, cut, The expansion section which separates the coloring matter generated at the component and detection reaction in a sample in operations of chromatography resemblance, such as adsorption and distribution, The timing section for adjusting advance of a reaction using the time amount which a sample solution moves, It consists of each part, such as the absorption section which absorbs the detecting element and the superfluous sample solution which detect coloring matter etc. by the attaching part for carrying out the trap of a component, coloring matter to generate in a sample, or removing them by the absorption, the reflection factor, transparency absorption, fluorescence, etc., and the penetrant remover and developing solution which were added, and prevents a back flow.

[0003] In an actual test piece, it may not necessarily restrict that the part which bears each of these functions exists respectively independently, for example, a detecting element may have two or more functions in the one section like the same litmus paper as the sample inhalation section, the reagent section, and the reaction section.

[0004] Moreover, the test piece of a monolayer mold equipped with the detection layer which became independent of the diffusion layer which serves as a sample inhalation layer, for example, the detection layer which serves both as a reagent layer and a reaction layer, or the reaction layer which serves both as a reagent layer, or a multilayer mold can also be mentioned. These many are stuck by the glue line on the base material. It may have the expansion layer or maintenance layer which has an operation of removing an active jamming component between a reaction layer and a detection layer etc. A diffusion layer may serve as an expansion layer and may be in contact with the reagent layer with the glue line. In the case where detection is performed by reflection factor measurement, a reflecting layer may be prepared before and after a detection layer. Point arrival being carried out to the diffusion layer which serves as a sample inhalation layer, and being spread in homogeneity, by dissolving the reagent in a reagent layer, a reaction advances, for example, coloring matter generates a sample solution from a coloring matter precursor. Although measured as it is in the case where a reagent layer and a reaction layer serve as a detection layer, by the case where it has the independent detection layer, the generated coloring matter carries out osmosis migration further at a detection layer, and is measured at the time. H.G.Curme, et al., Clinical Chemistry, and 24 (8) -- 1335-1342 (1978), B.Walter, Analytical Chemistry, 55 (4), 498A (1983) and Asaji Kondo -- "a **** weir" -- 1984 (7), 534, Asaji Kondo "**** weir" 1986(6), 387, the 8th page (edited by Japan Society for Analytical Chemistry: the 4th edition of revision, Maruzen (1991)) of an analytical chemistry handbook, and refer to JP,6-213886,A (Masao Kitajima et al.).

[0005] Moreover, the test piece using the superficial migration of a sample solution etc. which has the osmosis section

of a developing solution, for example at the end of the test piece on a filter paper split, was equipped with the sample inhalation section next to it, was equipped with the reaction section which served as the reagent section (an enzyme is fixed) to the central approach, and was further equipped with the detecting element which served both as the reagent section (a coloring matter precursor etc. is fixed), the reaction section, and an attaching part previously mentioned. In this case, after carrying out point arrival of the sample solution to the sample inhalation section, make a developing solution permeate from the end of a test piece, and a sample is moved by capillarity. React with an enzyme in the reaction section which served as the first reagent section (an enzyme is fixed), and a hydrogen peroxide is generated. In the detecting element which the hydrogen peroxide furthermore generated moves with the developing solution, and served both as the 2nd reagent section (a coloring matter precursor etc. is fixed), the reaction section, and an attaching part, coloration of the coloring matter precursor etc. is carried out, and adsorption maintenance of the generated coloring matter is carried out (detectable matter). Since a hydrogen peroxide moves with migration of a developing solution and color reaction cuts with the migration, if the amount of the quality of an analysis object increases, the width of face which carries out coloration becomes long, and, thereby, can measure the matter. (Refer to M.P.Allen, et al., Clinical Chemistry, 36 (9), 1591-1597 (1990), D.Noble, Analytical Chemistry, 65 (23), and 1037A (1993).)

[0006] Such a test piece is used for a urine trial, biochemical study, an immuno chromatography trial, etc. The enzyme fixed antigen which is a reagent as an example of an immuno chromatography test piece about the end of the filter paper (the whole surface may call it the reagent section, the reaction section, the expansion section, an attaching part, and a detecting element) which fixed the antibody, for example, If it is immersed in the developing solution which mixed the sample containing an antigen (quality of an analysis object), it is developed and it subsequently develops with the coloring liquid (a coloring matter precursor is included) which is the 2nd reagent, the part in which the enzyme fixed antigen which was developed beforehand and caught exists will carry out coloration to band-like. The die length of this band that carries out coloration is proportional to the amount of the antigen in a sample. (R.F.Zuk, et al., Clinical Chemistry, 31 (7), 1144 -1150 (1985) reference.)

[0007] Moreover, the end on a membrane filter split is equipped with the reagent section (the 1st antibody fixation-ized coloring latex) which served as the sample inhalation section as other examples of an immuno chromatography test piece. The test piece which equipped central approach with the reagent section (the 2nd antibody from which an epitope differs although the same antigen as the 1st antibody is recognized) which serves as the expansion section, was subsequently equipped with the expansion section, and was equipped with the detecting element which serves both as the reagent section (the 1st anti-antibody antibody) and an attaching part further mentioned. If point arrival of the sample solution is carried out to the sample inhalation section, an antigen (quality of an analysis object) and the 1st antibody will move an antigen-antibody reaction with migration of a sample solution with a lifting and an immune complex, and will produce the 2nd antibody and a sandwiches reaction in the reagent section which serves as the expansion section. However, the 1st superfluous antibody which does not make an immune complex passes the expansion section with migration of a sample solution, and is caught in the detecting element which serves both as the reagent section (the 1st anti-antibody antibody) and an attaching part. The quality of an analysis object can be measured by measuring the coloration of the coloring latex (the coloring matter of the detectable matter is included) by which the 1st antibody is fixed. (I.W.Davidson, Analytical Proceedings, 29, 459 (1992) reference.)

[0008] However, in the various test pieces mentioned above, un-arranging, such as adhesion in the trial section which adjoins [coloring matter / in the multi-item test paper which there is solubility over a sample solution reaction mixture, etc. in many cases, consequently has the elution to bulk liquid, such as coloring matter, the back flush to a diffusion layer, and two or more trial sections], produce the coloring matter generated by the reaction with the component which should be analyzed. Moreover, the phenomenon in which coloring matter etc. moves to the edge of the trial section with desiccation, the concentration of a center section becomes thin, and the concentration of a periphery becomes deep is also produced.

[0009] Although especially these inconvenient phenomena of reducing the sensibility of measurement, accuracy, and precision are remarkable in the urine test paper which is immersed in a sample solution and measured, they are general things irrespective of the class of sample.

[0010] On the other hand, the approach of putting covering on the trial section and preventing the elution of a reagent (JP,2-38861,A), How (JP,2-6541,A) to prevent liquid junction with the trial section which homogeneity is made to absorb a sample in the trial section which consists of good vesicular structure objects (a porous layer, porous film, etc.) of absorptivity, and adjoins it, The approach of choosing the reaction which generates insoluble coloring matter, insolubility, the approach of catching generation coloring matter etc. using a hydrophobic binder (binder) (JP,7-181174,A), The approach of controlling time amount by the multi-item test paper to measure, before the approach of extending the distance between the adjoining trial sections, the method of controlling and adjusting immersion time

amount, and diffusion take place etc. is proposed.

[0011] However, preparing a vesicular structure object by the formula of the precipitate solidifying method etc. has the fault that prepare covering in the trial section or the production process of the test paper becomes complicated. Moreover, when the reaction which insoluble coloring matter etc. generates is chosen, there is a fault, like the product inhibition of enzyme activity arises, for example. In the test piece which used the hydrophobic giant molecule as the binder, there is a fault of the absorptivity of the aquosity sample solution getting worse. Moreover, in a multi-item test piece, since the sensor of a piece usually moves two or more trial sections and reflected light measurement etc. is performed, when the distance between the trial sections is extended, there is a fault which a large area is needed or becomes disadvantageous for migration of a sensor. In addition, a trouble is in each -- the approach the approach of controlling immersion time amount has the fault that it is troublesome in a urine trial, and controls time amount has the fault of not being easy, by relation with reaction time -- and the present condition is that the still satisfying solution is not found out.

[0012] Moreover, between the electron transport matter (mediator) and the quality of an analysis object, with the enzyme etc., oxidation/reduction reaction is made to cause, there is a method of calculating the amount of the quality of an analysis object from the electrochemistry response when returning/oxidizing the oxidant/reductant of the produced electron transport matter with an electrode, and it has become the important quantum approach. Furthermore, the ligand (ionophore) which carries out ion, specific coordinate bond, or specific ionic bond is used for a liquid membrane electrode, and by measuring the membrane potential accompanying migration of the generated complex compound, the approach of carrying out the quantum of the ion which is the quality of an analysis object is learned, and it has become too important assay.

[0013] In the electrode using such an oxidant / electrochemically detectable reductant, or an electrochemically detectable complex compound of the electron transport matter Usually, although the electron transport matter or a ligand is made to hold near the electrode surface so that an electronic transition may occur promptly the elution of the electron transport matter or a ligand, and prevention of diffusion in a scale and coincidence by adding the electron transport matter or a ligand into an insoluble polymer The intermediate product generated from the quality of an analysis object or the quality of an analysis object in a sample in order that the mass transfer in a polymer may receive a limit, There is a fundamental fault that the electron transport matter in an insoluble polymer or a reaction with a ligand is checked, and the too satisfying solution is not found out.

[0014]

[Problem(s) to be Solved by the Invention] This invention controls diffusion and elution, such as coloring matter, and exact inspection and analysis are enabled, and it makes it a technical problem to offer the test piece for analysis which can be dealt with simple.

[0015]

[Means for Solving the Problem] In the test piece, by blending the specific inorganic compound with the detecting element which is the field which measures the coloring matter which the quality of an analysis object and a reagent react and is generated, diffusion and elution, such as coloring matter, were controlled, and this invention person etc. completed a header and this invention for the above-mentioned technical problem being solved.

[0016] That is, by measuring the detectable matter which the quality of an analysis object and the reagent in a sample react, and is generated, this invention is a test piece for analysis for measuring said quality of an analysis object, is equipped with the trial section which has a detecting element for detecting the matter in which said detection is possible one or more, and relates to the test piece which contains a stratified inorganic compound in said detecting element at least.

[0017] Moreover, this invention is equipped with the trial section containing the detection layer for detecting the matter detectable as said detecting element which consists of two or more layers one or more, and relates to said test piece which contains a stratified inorganic compound in said detection layer at least.

[0018] Moreover, this invention relates to said test piece characterized by a sample being spread through said diffusion layer and making it reach said detection layer including a diffusion layer for said trial section to diffuse a sample further.

[0019] Moreover, this invention is equipped with the trial section which has a detection field for detecting the detectable matter as a detecting element one or more, and relates to said test piece which contains a stratified inorganic compound to said detection field at least.

[0020] Moreover, said trial section has a diffusion field for diffusing said sample further, and this invention relates to said test piece characterized by a sample being spread through said diffusion field and making it arrive at said detection field.

[0021] Moreover, this invention relates to said test piece with which said detection field consists of two or more layers containing the detection layer for detecting the detectable matter. Moreover, said trial section has the reaction section for the quality of an analysis object and the reagent in a sample to react further, and this invention relates to said test piece characterized by generating the matter in which said detection is possible in said reaction section.

[0022] Moreover, this invention relates to said test piece characterized by preparing said detecting element in the location after spreading a sample and passing said reaction section. Moreover, this invention relates to said test piece with which the matter in which said detection is possible is characterized by generating by the reaction of the quality of an analysis object in a sample, and a reagent in said detecting element.

[0023] According to this invention, by including a stratified inorganic compound in the trial section, it is thought that the coloring matter generated by the reaction of an analysis object and a reagent and said stratified inorganic compound adsorb, consequently the diffusion and elution by the sample solution, reaction mixture, etc. are controlled, and high analysis of high sensitivity and precision is attained.

[0024] The test piece of this invention is applied to the approach of analyzing the component in a liquid using solid phase, and is especially used for analysis of the glucose in urine, a bilirubin, etc. In analysis of the component in such a liquid, the coloring matter generated at a reaction with a reagent dissolves in a sample solution, it is spread, and is easy to be eluted and the test piece of this invention is effective.

[0025] Although it will not be limited especially if the reaction which can be detected as the quality of an analysis object is caused as a reagent, it reacts with the quality of an analysis object preferably, and the complex compound of a coloring matter compound, the oxidant/reductant of the electron transport matter, an ionophore, and ion can be generated. In addition, not only coloring but discoloration, fluorescence, luminescence, etc. may be brought about that the reaction which generates a coloring matter compound here should just be a reaction which what can be detected optically generates. Moreover, when the coloring matter compound to generate is water solubility, it is desirable especially to apply to the test piece using the reagent into which this invention generates such a water-soluble coloring matter compound by the sample solution, reaction mixture, etc. since elution is carried out diffusion and often.

[0026]

[Embodiment of the Invention] Below, the gestalt of operation of this invention is explained at a detail. By measuring the detectable matter which the quality of an analysis object and the reagent in a sample react, and is generated, the test piece of this invention is a test piece for analysis for measuring said quality of an analysis object, and is equipped with the trial section which has a detecting element for detecting the matter in which said detection is possible one or more.

[0027] Although the trial section is a functional part which bears a series of analysis processes, such as absorption of a sample solution, diffusion, a reaction, and detection, in a test piece and especially the structure is not limited, generally Besides the detecting element for detecting the detectable matter of coloring matter etc. by said reflection factor, transparency absorption, fluorescence, etc. The sample inhalation section prepared in the end of the trial section for inhaling a sample solution and introducing into trial circles, or its near, The diffusion osmosis section for making trial circles permeate and diffuse a sample solution at homogeneity, the reagent section containing the quality of an analysis object contained in a sample, and the reagent which reacts, The expansion section which separates the coloring matter which reactions, such as a detection reaction, generate at the component and detection reaction in the reaction section to cut and a sample in an operation similar to a chromatography, The timing section for adjusting advance of a reaction using the time amount which a sample solution moves, It has the absorption section prepared an end or near the sample inhalation section and the trial section of the opposite side to the detecting element for absorbing an attaching part, a superfluous sample solution, and the penetrant remover and developing solution for carrying out the trap of a component, coloring matter to generate in a sample, or removing them by the absorption that were added, and preventing a back flow.

[0028] Each part which bears the function of these trial section may overlap mutually respectively, for example, the one section -- a detecting element serves both as the reagent section and the reaction section, or a detecting element serves as an attaching part -- may have two or more functions.

[0029] As a desirable mode of the test piece of this invention, the test piece equipped with the multilayer mold trial section which consists of two or more layers containing the detection layer which detects the detectable matter one or more is mentioned, for example as said detecting element. The sample inhalation layer for inhaling a sample solution and introducing into the trial section as layers other than a detection layer, The diffusion layer for making the trial section permeate and diffuse a sample solution at homogeneity, the reagent layer containing the quality of an analysis object contained in a sample, and the reagent which reacts, The expansion layer or maintenance layer which has an operation of removing the active jamming component of which reactions, such as a detection reaction, are prepared between the reaction layer and reaction layer to cut, and a detection layer etc., The glue line for making the absorption

layer and the trial section which absorb a superfluous sample solution, and the penetrant remover and developing solution which were added, and prevent a back flow fix on a base material etc. can be prepared. Said test piece a sample is spread through said diffusion layer and it was made to reach said detection layer including the diffusion layer for diffusing the sample other than said detection layer further is mentioned especially preferably. It is shown in the example 4 which mentions later the example of the test piece which has the multilayer mold trial section.

[0030] Moreover, the test piece equipped with the trial section which has a detection field for detecting the matter in which said detection is possible as said detecting element, for example as another desirable mode one or more is mentioned. The sample inhalation field for inhaling a sample solution and introducing into the trial section as fields other than said detection field, The diffusion field for making the trial section permeate and diffuse a sample solution at homogeneity, the reagent field containing the quality of an analysis object contained in a sample, and the reagent which reacts, The expansion field which separates the coloring matter which reactions, such as a detection reaction, generate at the component and detection reaction in the reaction field to cut and a sample in operations of chromatography resemblance, such as adsorption and distribution, The timing field for adjusting advance of a reaction using the time amount which a sample solution moves, The absorption field which absorbs a maintenance field, a superfluous sample solution, and the penetrant remover and developing solution for carrying out the trap of a component, coloring matter to generate in a sample, or removing them by the absorption that were added, and prevents a back flow can be prepared on a test piece. The thing to which the sample by which point arrival was carried out to the end of a test piece etc. including the diffusion field for diffusing the sample other than said detection field further passes along said diffusion field, mainly moves superficially in a capillary tube osmosis operation in a test piece top, and enabled it to arrive at said detection field is mentioned especially preferably. Moreover, you may have the multilayer structure which said detection field becomes from two or more layers containing the detection layer for detecting the detectable matter and which was mentioned above in this case. It is shown in the example 5 which mentions the example of the test piece using superficial migration of such a sample solution etc. later.

[0031] After preparing said detecting element independently and generating the matter in which said detection is possible in said reaction section in the reaction section for the quality of an analysis object and the reagent in a sample to react, it is introduced into said detecting element and you may make it detected in this invention. In that case, as for said detecting element, it is desirable to be prepared in the location after spreading a sample and passing said reaction section. It is desirable to prepare a detection layer in the location which reaches after specifically spreading the sample which permeated through a diffusion layer from the front face of the multilayer mold trial section, moving to an interlayer's reaction layer and passing said reaction layer further. Moreover, it is desirable to prepare a detection field, a reaction field, and a diffusion field on a test piece, and to establish a detection field in the field which reaches after said sample's mainly moving superficially, permeating through a diffusion field, moving to a reaction field and passing through said reaction field further.

[0032] Moreover, said detecting element serves also as the reaction section for the quality of an analysis object and the reagent in a sample to react to coincidence, and you may make it the matter in which said detection is possible generate by the reaction of the quality of an analysis object in a sample, and a reagent in said detecting element in this invention.

[0033] The detecting element of this invention may serve as the reagent section in which the reaction section in which said reaction occurs as mentioned above although the detectable matter of the coloring matter generated by the reaction of the quality of an analysis object and a reagent is the part actually detected, and a reagent are contained, and the reagent is usually beforehand contained in the detecting element in that case. On the other hand, in this invention, since said reaction section and reagent section have another independent detecting element, before the reagent does not need to be contained in the trial section and not necessarily adds a sample first in that case, and/or after adding, they may be the format which adds a reagent. Moreover, you may be the format which adds the solution of the detectable matter of the coloring matter generated by the reaction of the quality of an analysis object, and a reagent.

[0034] The test piece of this invention may consist of such [usually] the trial section and a supporter of the shape of a sheet which supports the trial section, tubular, and cylindrical **, and sensors, such as an electrode, a sample solution inhalator, etc. may accompany if needed further.

[0035] As for this invention, it is desirable to apply to the test piece using the reagent and the system of reaction which can generate the detectable matter of coloring matter which is described below. It will not be limited, especially if the detectable matter of the coloring matter generated by the reaction produces interactions, such as a stratified inorganic compound of this invention, and adsorption, and can form complex as a reagent. The matter which can stick to a stratified inorganic compound is explained by Chapter 11 "Interaction of Clays and Organic Compounds" of the compendium written by H.Van Olphen "An Introduction to Clay Colloid Chemistry and Second Edition" (Krieger

Publishment, Malabar) etc. in full detail. Moreover, the compound in which much adsorption is possible is introduced to JP,50-8462,B (Tadayoshi Kato).

[0036] The reagent which generates the detectable matter which carries out adsorption etc. to a stratified inorganic compound can be broadly found out in compounds, such as a coloring matter precursor which generates the detectable matter optically [coloring matter, a fluorochrome, etc.] by the oxidation reduction reaction, the acid-base reaction, the condensation reaction, a complexing reaction, etc., the compound which generates the oxidant / detectable reductant, or the detectable complex compound of a mediator (electron transport matter) electrochemically.

[0037] Since it is the solution which uses water as a solvent in many cases, a sample, a reagent, or a reactant will be easy to be carried out diffusion and elution, if the matter in which the above-mentioned detection is possible is water solubility. Therefore, when the detectable matter is water solubility, the effectiveness of this invention shows up well especially. Therefore, as for the reagent to be used, it is desirable that it is the reagent which generates a water-soluble detection compound, and many of such [actually] reagents are used. However, it is not limited to this but a sample, a reagent, or a reactant may be based on solvents other than water, and even if the reagent used in that case generates the matter in which diffusion and the detection by which elution is carried out are possible with the solvent, it does not interfere. Of course, the reagent which generates the matter in which insoluble detection is possible may be used for the solvent of a sample, a reagent, or a reactant.

[0038] Below, the reagent which generates the detectable matter optically is explained concretely. The compound which has conjugated system, such as a ring, preferably as a coloring matter precursor is used. Specifically The 4-amino -1, 2-dihydro - 1, 5-dimethyl - The coupler represented by 2-phenyl-3H-pyrazole-3-ON, The reagents (quinone system coloring matter is generated by carrying out oxidation condensation) of hydrogen donors (N-ethyl-N-(3-sulfopropyl)-3, 5-dimethylaniline, etc.) The coloring matter precursor which generates oxidation chromogen coloring matter, such as orthotolidine and benzidines (3, 3', 5, 5'-tetramethyl benzidine, etc.), The leuco of coloring matter, such as 2, 6-dichloro-4-[(4-hydroxyphenyl) imino]-2, and 5-cyclohexadiene-1-ON, (it colors by oxidizing), The compound which 4-hydroxyphenyl acetic acid etc. oxidizes and generates a fluorescent material, Photogene, such as chemiluminescence matter, tetrazolium salt (it is returned and formazan is generated), The reagents which 1, the 1'-dimethyl -4, a 4'-BIPIRIJIRIUMU salt, etc. are returned, and generate coloring matter The compound colored or discolored by change of pH, such as bromocresol green, Diazonium salt, such as 2-methoxy-4-morpholino benzene diazonium salt (coupling generates azo system coloring matter), Various well-known reagents for color reaction, such as 2, the 3-dimethyl -2, and 3-bis(hydroxy amino) butane (it reacts with an aldehyde and coloration is carried out), Various well-known reagents for a reaction, such as an alt.phthalaldehyde (it reacts with a histamine and a fluorescent material is generated), The compound which forms complexes, such as enzyme substrates, such as 4-methyl umbelliferyl phosphate, and 2-(5-BUROMO-2-pyridyl azo)-5-[N-propyl-N-(3-sulfopropyl) amino] aniline salt, and is colored and discolored is mentioned.

[0039] A hydrogen donor is a peroxidase operation under coexistence of a hydrogen peroxide here. The 4-amino -1, 2-dihydro - 1, 5-dimethyl - 2-phenyl-3H-pyrazole-3-ON (it abbreviates to 4-AA hereafter.) They are compounds, such as a phenol which condenses with a 3-methyl-2-benzothiazolinone hydrazone and generates quinone system coloring matter. Specifically Dichlorophenol, an alt.methoxy phenol, 1 and 2, 3-trihydroxy benzene, Dimethylaniline, an N-ethyl-N-sulfopropyl meta-anisidine, An N-ethyl-N-sulfopropyl aniline, N-ethyl-N-(3-sulfopropyl)-3, 5-dimethoxy aniline, N-ethyl-N-(3-sulfopropyl)-3, 5-dimethylaniline, An N-ethyl-N-sulfopropyl meta-toluidine, an N-ethyl-N-(2-hydroxy-3-sulfopropyl) meta-anisidine, An N-ethyl-N-(2-hydroxy-3-sulfopropyl) aniline, N-ethyl-N-(2-hydroxy-3-sulfopropyl)-3, 5-dimethoxy aniline, N-(2-hydroxy-3-sulfopropyl)-3, 5-dimethoxy aniline, N-ethyl-N-(2-hydroxy-3-sulfopropyl)-3, 5-dimethylaniline, an N-ethyl-N-(2-hydroxy-3-sulfopropyl) meta-toluidine, N-(3-sulfopropyl) aniline, etc. are mentioned.

[0040] Moreover, as the orthotolidine and benzidines, a - tetramethyl benzidine, N-(3-sulfopropyl)-3, 3', and orthotolidine, dianisidine, 3, and 3'-diaminobenzidine, 3, 3', 5, and 5'5, 5'-tetramethyl benzidine etc. is mentioned.

[0041] Moreover, a leuco is a colorless coloring matter precursor which oxidizes, serves as coloring matter and colors. As coloring matter with which the leuco oxidized, 2, 6-dichloro-4-[(4-hydroxyphenyl) imino]-2, 5-cyclohexadiene-1-ON, 2, 6-dichloro-4-[(3-chloro-4-hydroxyphenyl) imino]-2, 5-cyclohexadiene-1-ON, A 7-(diethylamino)-3-imino-8-methyl-3H-phenoxazine salt, A 3-(diethylamino)-7-amino-5-phenyl phenazinium salt, 3, a 7-bis(dimethylamino) phenothiazin-5-IUMU salt, a 1-hydroxy-5-methyl phenazinium salt, 7-hydroxy - 3H-phenoxazine-3-ON-10-oxide is mentioned. As a leuco - benzylidene screw (N,N-dimethylaniline), and 4 and 4'4, 4' bis[-] [N-ethyl-N-(3-sulfopropyl amino)-2 and 6-dimethylphenyl] methane, 1-(ethylamino thiocarbonyl)-2-(3, 5-dimethoxy-4-hydroxyphenyl)-4, a 5-bis(4-diethylaminophenyl) imidazole, 4, a 4'-bis(dimethylamino) diphenylamine, N-(carboxymethyl aminocarbonyl)-4, a 4'-bis(dimethylamino) diphenylamine salt, A 10-(carboxymethyl aminocarbonyl)-3 and 7-bis(dimethylamino)

phenothiazin salt etc. is mentioned.

[0042] As a coloring matter precursor which oxidizes and colors, in addition, 4-methoxyphenol, A 4-ethoxy phenol, a 2-ethoxy phenol, 1-(2-hydroxy-5-methoxyphenyl) ETANON, A 2-hydroxy-5-methoxy benzoic acid, a 2-hydroxy-5-methoxy benzaldehyde, 2-hydroxy-5-methoxy methyl benzoate, a 4-methoxy-2-nitrophenol, 2-chloro-4-methoxyphenol, a 4-hydroxy-3-methoxy benzaldehyde, a 4-hydroxy-3-methoxy benzoic acid, etc. are mentioned.

[0043] Moreover, 3-(4-hydroxyphenyl)-2-propenoic acid, 2-hydroxyphenyl acetic acid, 3-hydroxyphenyl acetic acid, 4-hydroxyphenyl acetic acid, 3-hydroxybenzoic acid, 4-hydroxybenzoic acid, 2-aminobenzoic acid, 3-aminobenzoic acid, 4-aminobenzoic acid, 3, 4-diamino benzoic acid, 3, 5-diamino benzoic acid, a 4-amino-2-chloro benzoic acid, a 4-amino-3-methyl benzoic acid, a 4-amino-3-methoxy benzoic acid, 4-amino phthalic acid, etc. are mentioned.

[0044] Moreover, 2, a 4-diamino-6-hydroxy pyrimidine, 4, a 5-diamino-6-hydroxy pyrimidine, The 4-amino -2, 6-dihydroxy pyrimidine, 6-hydroxy - 2, 4, 5-triamino pyrimidine, 4, the 5-diamino -2, 6-dihydroxy pyrimidine, 4-amino-6-hydroxy-2-methylpyrimidine, a 4-amino-6-hydroxy pyrimidine, a 4-amino-6-hydroxy-2-methoxy pyrimidine, etc. are mentioned.

[0045] Moreover, as reagents which oxidize and generate a fluorescent material, it is 4-hydroxyphenyl acetic acid, an acetic acid (4-hydroxy-3-methoxyphenyl), 3-(4-hydroxyphenyl) propionic acid, a 4-hydroxy-(2-aminoethyl) phenol, and 4-hydroxy. - N, N, and N-trimethyl benzene meta-minium, alpha AMINOPARA hydroxy hydrocinnamic acid, 4-hydroxy phenethylamine, N-(4-hydroxyphenyl) acetanilide, 2, and 7-dichloro fluorescein diacetate etc. is mentioned.

[0046] Moreover, as photogene, such as chemiluminescence matter, firefly luciferin, cypridina luciferin, aequorin, a lucigenin derivative, a luminol derivative, acridinium ester, a fault oxalate, etc. are mentioned.

[0047] For example, by the approach of using the system of reaction which said 4-AA and hydrogen donor, benzidines, and a leuco oxidize and color under existence of oxidizing substances, such as a hydrogen peroxide, the quantum of the quality of an analysis object is carried out by measuring the coloring matter to generate with an absorptiometer etc. and carrying out the quantum of the hydrogen peroxide indirectly.

[0048] Moreover, by the approach of using the system of reaction which said fluorescent material and photogene generate, the quantum of the quality of an analysis object is carried out by measuring with a fluorophotometer, a luminescence photometer, etc. and carrying out the quantum of the hydrogen peroxide indirectly.

[0049] In the oxidation reaction which generates such coloring matter, the oxidizer which participates in oxidation reaction is not limited to a hydrogen peroxide, and may use various well-known oxidizers. Oxidizing enzyme, such as a peroxidase, may be added. Moreover, the reaction which said oxidizer generates may arise in advance of the oxidation reaction which coloring matter generates.

[0050] As tetrazolium salt, moreover, 2, 3, 5-triphenyl tetrazolium salt, 2 5-diphenyl-3-(1-naphthyl)-2H-tetrazolium salt, 3 and 3' -- a - [3, 3'-dimethoxy-(1 and 1'-biphenyl)-4, and 4'-diyl]-bis[2-(4-nitrophenyl)-5-phenyl-2H-tetrazolium] salt -- 3 A 3'-[3, 3'-dimethoxy-(1 and 1'-biphenyl)-4, and 4'-diyl]-bis(2 and 5-diphenyl-2H-tetrazolium) salt, 2-(4-iodine phenyl)-3-(4-nitrophenyl)-5-phenyl-2H-tetrazolium salt, 2-(4-iodine phenyl)-3-(4-nitrophenyl)-5-(2, 4-disulfo phenyl)-2H-tetrazolium salt, 2-(4-iodine phenyl)-3-(2,4-dinitrophenyl)-5-(2, 4-disulfo phenyl)-2H-tetrazolium salt, 3 3' -(1, 1'-biphenyl -4, 4'-diyl)- Bis(2 and 5-diphenyl-2H-tetrazolium) salt, 3-(4, 5-dimethyl-2-thiazolyl)-2, and 5-diphenyl-2H-tetrazolium salt etc. is mentioned.

[0051] Moreover, as a compound which is returned and generates coloring matter, reductants, such as 1, the 1'-dimethyl -4, a 4'-BIPIRIJIRIUMU salt, 1, the 1'-dibenzyl -4, and a 4'-BIPIRIJIRIUMU salt, are mentioned. Moreover, 7-hydroxy - Although 3H-phenoxazine-3-ON-10-oxide etc. is returned and a fluorochrome is generated As a reagent which generates such a fluorochrome 7-hydroxy - 3H-phenoxazine-3-ON-10-oxide, 5-cyano - The fluorescent material which 2 and 3-bis(4-methylphenyl)-2H-tetrazolium salt, 2, and 3-bis(4-cyanophenyl)-5-cyano-2H-tetrazolium salt etc. is returned, and is generated is mentioned.

[0052] For example, by the approach of using the system of reaction in which said tetrazolium salt etc. carries out a reduction reaction and which it colors under existence of a reducing agent, the quantum of the quality of an analysis object is carried out by measuring the coloring matter to generate with an absorptiometer or a fluorophotometer, and carrying out the quantum of the reducing agent indirectly. Moreover, the reaction which a reducing agent generates in advance of the reduction reaction which coloring matter generates may arise.

[0053] In the reduction reaction which generates such coloring matter, nicotinamide adenine dinucleotide or nicotinamide adenine dinucleotide phosphate is preferably used as a reducing agent which participates in a reduction reaction. However, not the thing limited to this, of course but various well-known reducing agents may be used.

[0054] moreover, as a compound colored or discolored by change of pH Bromocresol green, a bromophenol blue, Phenol Red, Sulfone phthalein system coloring matter, such as BUROMO pyrogallol red and pyrogallol red, Triphenylmethane color system coloring matter, such as Malachite Green and ROZORIKKU acid, Quinoline system

coloring matter, such as quinaldine-red, N-(PARAHIDOROKISHI phenyl)-2, and 6-dichloro paraben ZOKINON imine, 7-hydroxy - Conductive polymer compounds, such as coumarin system coloring matter, such as an oxazone system coloring matter [, such as 3H-phenoxyazine-3-ON-10-oxide,], 6, and 7-dihydroxy-4-methyl coumarin, and aniline oligomer, are mentioned.

[0055] For example, the compound colored or discolored by change of pH carries out the quantum of the quality of an analysis object by measuring the coloring matter to generate with an absorptiometer etc. by the approach of using the system of reaction colored or discolored, and carrying out the quantum of an acid or the base indirectly by the acid or the base.

[0056] Moreover, when the compound colored or discolored, for example by change of pH measures the coloring matter to generate with an absorptiometer etc. by the approach of using the system of reaction colored or discolored and carries out the quantum of the hydrogen ion concentration with a hydrogen ion, the quantum of the quality of an analysis object is carried out.

[0057] Moreover, 3 which carries out coupling to the 2-methoxy-4-morpholino benzene diazonium salt and urobilinogen which carry out coupling to indoxylo and generate azo system coloring matter as diazonium salt, and generates azo system coloring matter, the 3'-dimethoxy biphenyl -4, 4'-diazonium salt, etc. are mentioned. Moreover, there is a reagent which participates in the reaction which generates diazonium salt as a reagent in these criteria. The N-1-naphthyl ethylenediamine which carries out coupling to 4-aminobenzene arsonate which generates diazonium salt under existence of a nitrite, or its diazonium salt as such a reagent, and generates azo system coloring matter is mentioned. Moreover, 2 which carries out coupling to the bottom of existence of a nitrite, and generates azo system coloring matter, 4-dichloro aniline, N, and an N-diethyl-N'-1-naphthyl naphthyl ethylenediamine oxalate (Tsuda reagent) are mentioned. Moreover, a nitrite is mentioned.

[0058] By the approach of using the system of reaction which said azo system coloring matter generates, the coloring matter to generate is measured with an absorptiometer etc. and the quantum of the quality of an analysis object (in the aforementioned example, they are indoxylo, urobilinogen, and a nitrite) which is the starting material of a reaction is carried out. The reaction which azo system coloring matter generates is not limited to the natural aforementioned example, and is preferably applied to the reaction which various well-known azo system coloring matter generates.

[0059] Moreover, the hydrogen peroxide when detecting an aldehyde as various well-known reagents for color reaction, and 1, 4-diaminobenzene, 2 when detecting an aldehyde, the 3-dimethyl -2, 3-bis(hydroxy amino) butane, Although 2 when detecting the 1OH-phenothiazin when detecting the 3-methyl-2-benzothiazolinone hydrazone when detecting an aldehyde, and an oxidizing agent and the second class amine, a bromine, and a thiol, 2'-dithiodipyridine, etc. are mentioned Of course, it is not limited to this. By the approach of using said well-known color reaction, the coloring matter to generate is measured with an absorptiometer etc. and the quantum of the quality of an analysis object (in the aforementioned example, they are an aldehyde, the second class amine, and a thiol) which is the starting material of a reaction is carried out. It is not limited to the aforementioned example with the well-known natural color reaction which can be used.

[0060] Moreover, as various well-known reagents for a reaction which generate a fluorescent material, it is 2-hydroxy [when detecting a guanidino compound]. - Although 1 when detecting the alt.phthalaldehyde when detecting the alt.phthalaldehyde when detecting 1, 2-diphenylethanone, and a histamine and spermidine and an alpha keto acid, the 2-diamino -4, 5-dimethoxybenzene, etc. are mentioned, of course, it is not limited to this.

[0061] By the approach of using said well-known detection reaction, the fluorescent material to generate is measured with a fluorophotometer etc. and the quantum of the quality of an analysis object (in the aforementioned example, they are a guanidino compound, a histamine, spermidine, and an alpha keto acid) which is the starting material of a reaction is carried out. The well-known detection reaction which can be used is not limited to the natural aforementioned example.

[0062] moreover, as an enzyme substrate which reacts with an enzyme and generates coloring matter and a fluorescent material The N-tosyl-L-phenylalanine-2-amide acridone which is the substrate of a chymotrypsin, The L-alanine-2-amide acridone which is the substrate of aminopeptidase, The 7-acetoxy-N-methyl quinolinium salt when measuring esterase, The 7-acetoxy-3H-phenoxyazine-3-ON which is the substrate of esterase, Although 5, 10, 15, 20-tetrakis (4-phosphonoxy phenyl) porphin, etc. which are the substrate of 4-methyl umbelliferryl phosphate and phosphatase which is a substrate of phosphatase are mentioned, of course, it is not limited to this.

[0063] For example, by the approach said enzyme substrate uses the reaction decomposed with an enzyme, the quantum of the quality of an analysis object is carried out by measuring coloring matter and the fluorescent material to generate with an absorptiometer, a fluorophotometer, etc., and carrying out the quantum of the enzyme indirectly. The enzyme and the enzyme substrate may be chemically combined with an antibody or its fragment.

[0064] Moreover, the compounds which form a complex, and are colored and discolored are a metal ion, an anion, and compounds, such as a ligand which forms a complex by coordinate bond or ionic bond, and generates coloring matter or a fluorescent material. Although the compound which forms the colored others and transition-metals ion and complex which are known as a metal indicator or a KUROMO ionophore as a compound which forms a metal ion and a complex, and is colored and discolored, and is colored is contained, [compound] Specifically

Ethylenediaminetetraacetic acid, 2, and 2-bipyridine, 1-hydroxy-2-(2-hydroxy phenylazo) benzene, Dibenzo-18-crown -6, dicyclohexyl-18-crown -6, and annular polyamine A calyx [4] arene, 3-[N and N-bis(carboxymethyl) aminomethyl]-1, 2-dihydroxy Anthraquinone, 5', the 5"-dibromo pyrogallol sulfone phthalein, a 2-hydroxy-1-(1-hydroxy-2-naphthylazo)-6-nitro-4-naphthalene sulfonate, 2 and 6-dichloro -4 -- ' hydroxy-3', 3"-dimethyl FUKUSON -5', and 5 -- " 2 carboxylate 3 and 3' bis[-] [N and N-bis(carboxymethyl) aminomethyl] fluorescein, 8-[N and N-bis (carboxymethyl) aminomethyl]-4-methylumbelliferone, 2, the 7-screw (2-ARUSONO phenylazo) -1, 8-dihydroxy -3, 6-naphthalene disulfon acid, 5-chloro-2-hydroxy-3-(2, 4-dihydroxyphenylazo) benzenesulfonic acid, 5-[(hexahydro - 2, 4, 6-TORIOKISO-5-pyrimidinyl) imino] - 2, 4, and 6(1H, 3H, 5H)-pyrimidine trione salt -- 2-(5-BUROMO-2-pyridyl azo)-5-[N-propyl-N-(3-sulfopropyl) amino] aniline salt, A 1, 8-dihydroxy-2-(2-pyridyl azo)-3, 6-naphthalene disulfon acid chloride, and 2-nitroso-5-[N-propyl-N-(3-sulfopropyl) amino] phenol etc. is mentioned.

[0065] Moreover, as a compound which generates the cation and the colored complex of monovalence especially, a tetrakis [3 and 5-bis(trifluoromethyl) phenyl] borate salt, tetra-phenyl phosphonium salt, etc. are mentioned.

[0066] moreover, as a compound which generates calcium ion etc. and a fluorescence complex especially 1-[2-amino-5-(2, 7-dichloro - 6-hydroxy-3-oxy--9-KISAN phenyl) phenoxy]-2-(2-amino-5-methylphenoxy) ethane - N, N, N', and N' -4 acetate 1-[2-amino-5-(2, 7-dichloro - 6-hydroxy-3-oxy--9-KISAN phenyl) phenoxy]-2-(2-amino-5-methylphenoxy) ethane - N, N, N', and N' -4 acetic acid PENTA acetoxy methyl ester -- 1-[6-amino-2-(5-carboxy-2-OGIZAZOIRU)-5-benzofuranyloxy]-2-(2-amino-5-methylphenoxy) ethane - N, N, N', and N' -4 acetate 1-[6-amino-2-(5-carboxy-2-OGIZAZOIRU)-5-benzofuranyloxy]-2-(2-amino-5-methylphenoxy) ethane - N, N, N', and N' -4 acetic acid PENTA acetoxy methyl ester -- 1-[2-amino-5-(6-carboxy-2-indolyl) phenoxy]-2-(2-amino-5-methylphenoxy) ethane - N, N, N', and N' -4 acetate 1-[2-amino-5-(6-carboxy-2-indolyl) phenoxy]-2-(2-amino-5-methylphenoxy) ethane - N, N, N', and N' -4 acetic acid PENTA acetoxy methyl ester -- 8-amino-2-[(2-amino-5-methylphenoxy) methyl]-6-methoxy quinoline - N, N, N', and N' -4 acetate 8-amino-2-[(2-amino-5-methylphenoxy) methyl]-6-methoxy quinoline - N, N, N', and N' -4 acetic-acid PENTA acetoxy methyl ester -- 3 and 3' bis[-] [N and N-bis (carboxymethyl) aminomethyl] fluorescein, 8-[N and N-bis(carboxymethyl) aminomethyl]-4-methylumbelliferone, etc. are mentioned.

[0067] moreover, the bromination to which fluorescence intensity will decrease if an anion, the tetra-phenyl arsonium salt and chloride ion which form a colored complex, and a complex are formed -- 8-hydroxy-1-(SARISHIRI DIN amino)-3 and 6-naphthalene disulfon acid chloride which forms N-ethoxy carbonylmethyl-6-methoxy quinolinium, boron, and a complex is mentioned.

[0068] By the approach of using the reaction in which said complex is formed, the quantum of the quality of an analysis object (in many cases, it is ion) is carried out by measuring ion, and coloring matter and the fluorescent material which a ligand etc. generates with an absorptiometer, a fluorophotometer, etc., and carrying out the quantum of the amount of coloring matter or a fluorescent material.

[0069] In the above, although the detectable matter was described optically, the reagent which generates the detectable matter electrochemically next is explained. The reagent which generates the oxidant / reductant, or the complex compound of the electron transport matter detectable [with an electrochemical process] is a ligand (ionophore) which forms a complex by the reductant / oxidant, specific ion and coordinate bond, or ionic bond of the electron transport matter (mediator).

[0070] The electron transport matter oxidizes / returns the quality of an analysis object with an enzyme etc., and carries out the quantum of the quality of an analysis object from the quality of an analysis object, or the electrochemistry response when being the chemical which receives / supplies an electron directly, and oxidizing / returning the reductant/oxidant of the electron transport matter with an electrode at the quality of an analysis object in that case. Moreover, the electron transport matter and the quality of an analysis object do not need to be delivering and receiving the electron directly, and the electron transport matter may oxidize / return the quality of an analysis object with an enzyme etc., and you may be the chemical which receives / supplies an electron indirectly from the quality of an analysis object to the quality of an analysis object in that case. The quantum of the quality of an analysis object is carried out from the electrochemistry response when returning/oxidizing with an electrode the oxidant/reductant of the quality of an analysis object, and the electron transport matter which has a quantitative relation.

[0071] That by which oxidation reduction is carried out as electron transport matter with the potential of measurable

within the limits of the electrode to be used (a carbon electrode usually -1.2 V +1.0 V) is desirable. Specifically 1, the 1'-dimethyl -4, a 4'-BIPIRIJIRIUMU salt, 1, the 1'-dibenzyl -4, a 4'-BIPIRIJIRIUMU salt, 1, 4-diaminobenzene, 2-methyl-1,4-naphthoquinone, N-methyl phenazinium salt, A 1-hydroxy-5-methyl phenazinium salt, a 1-methoxy-5-methyl phenazinium salt, A 9-dimethylamino benzoalpha phenoxazine-7-IUMU salt, Ferrocene derivative, hexa cyano iron(II) salt, and 7-hydroxy-3H-phenoxazine-3-ON 10-oxide, 3, a 7-diamino-5-phenyl phenazinium salt, a 3-(diethylamino)-7-amino-5-phenyl phenazinium salt, 1, 4-benzene diol, 1, 4-dihydroxy - 2, 3, 5-trimethyl benzene, N, N', - tetramethyl-1, 4-benzene diamine, and N'delta 2, 2'-BI -1, 3-dithiol, 2, 6-dimethyl benzoquinone, 2, 5-dimethyl benzoquinone, 2, 3 and 5, 6-tetramethyl - 2, the 5-cyclohexadiene -1, 4-dione, 2, 6-dichloro-4-[(4-hydroxyphenyl) imino]-2, 5-cyclohexadiene-1-ON, 2, 6-dichloro-4-[(3-chloro-4-hydroxyphenyl) imino]-2, 5-cyclohexadiene-1-ON, A 7-(diethylamino)-3-imino-8-methyl-3H-phenoxazine salt, 3, and 7-bis(dimethylamino) phenothiazin-5-IUMU salt etc. is mentioned.

[0072] In this example, it is the reagent with which the reductant/oxidant of the electron transport matter generate the detectable matter electrochemically, and the reaction which generates the detectable matter electrochemically is oxidation/reduction reaction of the electron transport matter. The electrochemistry response of the oxidation reduction current when returning/oxidizing with an electrode the oxidant/reductant of the quality of an analysis object and the electron transport matter which exists with quantitative relation as mentioned above etc. is measured, and the quantum of the quality of an analysis object is carried out.

[0073] Coordinate bond or ionic bond is produced on the specific ion and specific selection target whose ionophore is the quality of an analysis object, it is compounds, such as a ligand used as a complex, and being used with the liquid membrane electrode is known especially well.

[0074] As an ionophore which builds a cation and a complex, specifically A tetrakis [3 and 5-bis(trifluoromethyl) phenyl] borate salt, Tetra-phenyl phosphonium salt, valinomycin, cyclo (N', N'-dioctyl-D-asparaginyl-L-prolyl-L-alanyl) 2, a screw (benzo-15-crown -5), Bis[(benzo-15-crown -5) -4-methyl] PIMERETO, A screw (12-crown -4), screw [(12-crown -4) methyl]-2-dodecyl-2-methyl malonate, 14-crown -4, dodecyl-methyl-14-crown - 4, 6, and 6-dibenzyl - 1, 4, 8, 11-tetra-OKISA cyclo tetradecane, Dibenzo-18-crown -6, dicyclohexyl-18-crown - 6, 4, 16-G N-octadecyl carbamoyl-3-OKISA butyryl - 1, 7, 10, 13, 19-pen TAOKISA -4, 16-diaza cyclo henicosane, etc. are mentioned.

[0075] Moreover, as an ionophore which builds an anion and a complex, tetra-phenyl arsonium salt, a 6-methoxy-N-(3-sulfopropyl) quinolinium salt, etc. are mentioned.

[0076] It is the approach of making detach only a certain specific ion a chosen part, measuring the membrane potential produced in that case, and carrying out the quantum of the specific ion which is the quality of an analysis object by a liquid membrane electrode's preparing a porous macromolecule layer etc. on the surface of an electrode, infiltrating an ionophore into a macromolecule layer, combining it only with the specific ion in a sample solution, and moving the inside of a macromolecule layer. It is not necessarily restricted to the example of this liquid membrane electrode that an ionophore is used for the electrochemical detection approach, of course.

[0077] The reagent which generates the detectable matter electrochemically in this example is an ionophore which forms specific ion and a specific complex, and the reaction which generates the detectable matter is a complexing reaction of the ionophore by coordinate bond or ionic bond, and specific ion. By measuring electrochemically the membrane potential generated according to the concentration of the specific ion which is the quality of an analysis object as mentioned above, the quantum of the quality of an analysis object is carried out.

[0078] As the system of reaction which generates the matter in which such detection is possible, the following systems of reaction are specifically mentioned.

[0079] (a) It is the analytical method of the quality of an analysis object which is the approach of using the system of reaction including the oxidation reaction which uses the generation reaction of a hydrogen peroxide, or a hydrogen peroxide as an oxidizer, and carries out the colorimetry of the coloring matter compound which is made to specifically generate a hydrogen peroxide through the oxidizing-enzyme system of reaction from the quality of an analysis object, is made to perform oxidizability chromogen (coloring matter precursor) and an oxidation reduction reaction under coexistence of a peroxidase, and generates this by this reaction.

[0080] (b) It is the analytical method which carries out the colorimetry of the coloring matter compound which is made to generate NADH or NADPH through the dehydrogenase system of reaction, is made to act on a coloring matter precursor, returns to the bottom of electron transport system existence, and specifically [are the approach of using the system of reaction including the reaction which uses the reaction which generates nicotinamide adenine dinucleotide (NADH) or nicotinamide adenine dinucleotide phosphate (NADPH), NADH, or NADPH as a reducing agent, and] generates this by this from the quality of an analysis object.

[0081] (c) How to measure the amount of the nitrite which carries out the quantum of the azo dye which made the nitrous acid react to aromatic series primary amine under acidity, and the diazonium salt and the coupling reagent-ed which were made to generate diazonium salt and were generated were made to react, and was subsequently generated, diazonium salt, and a coupling compound.

[0082] (d) The approach of measuring the amount of the matter by which the indicator was carried out by the fluorescence enzyme substrate, or the alkaline phosphatase that fluorescence enzyme substrates, such as 4-methylumbelliferone which has phosphoric ester, separate phosphate according to an operation of the alkaline phosphatase, and measure the fluorescence which irradiates excitation light and emits it to the fluorescent material which generated and generated the fluorescent material.

[0083] (e) The measuring method of the amount of the matter in which oxidized/returned mediators, such as 1 and 4-diaminobenzene, and the indicator was carried out by the oxidoreductase etc. with the oxidoreductase which measures a current response in case the oxidant/reductant of the generated mediator return / oxidize by electrode reaction, or the oxidoreductase.

[0084] As analytical method using such the system of reaction, immunoassays, such as ELISA, immuno chromatography, a urinalysis, a biochemistry blood test, color test paper, etc. are mentioned. The concrete example of such a test piece H.G.Curme, et al., Clinical Chemistry, 24 (8), 1335-1342 (1978), B.Walter, Analytical Chemistry, 55 (4), 498A (1983) and Asaji Kondo -- "a **** weir" -- 1984 (7), 534, Asaji Kondo "**** weir" 1986(6) -- 387, the 8th page (edited by Japan Society for Analytical Chemistry: the 4th edition of revision, Maruzen (1991)) of analytical chemistry handbook, JP,6-213886,A (Masao Kitajima et al.), M.P.Allen, et al., Clinical Chemistry, 36 (9), 1591-1597 (1990), D.Noble, Analytical Chemistry, 65 (23), It is explained by reference, such as 1037A (1993), R.F.Zuk, et al., Clinical Chemistry, 31 (7), and 1144-1150 (1985), in full detail. As matter which can be analyzed by these approaches, biogenic substances, such as urine in body fluid and blood, food, physic, the minute amount matter that exists in natural environment, the industrialization study matter, the minute amount matter in trash, etc. are mentioned, and the test piece of this invention is applicable to these analysis.

[0085] The trial section of the test piece of this invention can be made to contain the well-known compound usually further used for this test piece for analysis if needed, for example, a hydrophilic polymer etc.

[0086] In this invention, it is required to contain the stratified inorganic compound in the detecting element which is the part in which the coloring matter generated in the trial section in a test piece exists. That is, it is required for at least one detection layer or detection field which constitutes said trial section to contain the stratified inorganic compound. In the multilayer mold trial section which specifically consists of two or more layers containing a detection layer, a stratified inorganic compound is contained in said detection layer at least. In this case, a stratified inorganic compound may be further contained in layers other than said detection layer, for example, a stratified inorganic compound may be contained in a sample inhalation layer, a diffusion layer, a reagent layer, a reaction layer, a glue line, a maintenance layer, an expansion layer, an absorption layer, etc.

[0087] Moreover, when said trial section has a detection field, a stratified inorganic compound is contained to said detection field at least. Furthermore, the stratified inorganic compound may be contained to fields other than said detection field, for example, a stratified inorganic compound may be contained to a sample inhalation field, a diffusion field, a reagent field, a reaction field, an expansion field, a timing field, a maintenance field, an absorption field, etc. In this case, a detection field may be multilayer structure and contains a stratified inorganic compound in a detection layer at least among the layers which constitute a detection field in that case. Furthermore, the stratified inorganic compound may contain in other layers.

[0088] Moreover, it is desirable to prepare a detecting element in the location after spreading a sample and passing said reaction section, and for the detectable matter generated in this reaction section to move to the detecting element containing a stratified inorganic compound, and to make it detected, when the trial section has the reaction section for the quality of an analysis object and the reagent in a sample other than said detecting element to react.

[0089] The stratified inorganic compound of this invention is an inorganic compound which has the crystal structure with which the sheet structure with which polyhedrons, such as Si tetrahedron and aluminum octahedron, were connected in the plane lapped in the shape of a layer, and a stratified clay mineral and a hydrotalcite are contained.

[0090] A clay mineral says the aluminum silicate mineral which occupies clayey [the great portion of] (what is the inorganic granular object of the shape of fine soil, and has plasticity in the condition of having become wet with water), and Si tetrahedron, aluminum, or Mg with which Si was surrounded by four O (oxygen atom) usually makes aluminum (or Mg) octahedron surrounded by six OH radicals or O the minimum configuration unit.

[0091] The structure of a stratified clay mineral shares the field whose Si tetrahedron is one, turns O of the top-most vertices which remain in this direction, and forms a hex-steel-like sheet (tetrahedron sheet), on the other hand,

aluminum (or Mg) octahedron shares a dihedral angle, and forms a sheet (octahedron sheet), and these lap in the shape of a layer. That in which the one more sheet octahedron sheet was caught between the layers of a 2:1 mold mineral and 2:1 molds in the mineral which 2:1 layers which sandwiched the 1:1 mold mineral and the octahedron sheet of one sheet for the mineral which 1:1 layers which the tetrahedron sheet and the octahedron sheet lapped one sheet at a time, and were made were piled up many sheets, and was able to do them with the tetrahedron sheet of two sheets were piled up many sheets, and were able to do be called 2:1:1 mold mineral. Moreover, an octahedron sheet calls that from which one third is [3 octahedron molds (Trioctahedral) and an octahedron sheet] a hole with aluminum (OH)₃ about that to which a metal ion exists in all octahedral sites with Mg(OH)₂ 2 octahedron molds (Dioctahedral). As a stratified inorganic compound used by this invention, a 2:1 mold mineral is desirable.

[0092] The element which constitutes the stratified inorganic compound of this invention consists of at least one or more chosen from a lithium, sodium, a potassium, magnesium, aluminum, silicon, oxygen, hydrogen, a fluorine, and carbon preferably, and the compound expressed with any one of the formulas 1-9 specifically shown below is mentioned. In addition, water of crystallization could be contained in these formulas. It is a formula as a pure compound mineralogically [these formulas] or chemically. Of course, in an actual stratified inorganic compound That it may not necessarily be in agreement with these formulas as what defined the chemical formula by elemental analysis etc. since impurities, such as a sodium silicate, may be included For example, it is that reference (D.W. Thompson, J.T.Butterworth, J.Colloid Interf.Sci., 151, 236-243 (1992)) is described.

[0093]

[Formula 1]

M_xSi_4 (aluminum_{2-x}Mg_x)O₁₀X₂ ... (1)

(In a formula 1, M is any one of H, Li, Na, and K, X is OH or F, and x is less than two positive number.)

[0094]

[Formula 2]

$M_x(Si_4-xAl_x)$ aluminum 2O₁₀X₂ ... (2)

(In a formula 2, M is any one of H, Li, Na, and K, X is OH or F, and x is less than four positive number.)

[0095]

[Formula 3]

M_xSi_4 (Mg_{3-x}Li_x)O₁₀X₂ ... (3)

(In a formula 3, M is any one of H, Li, Na, and K, X is OH or F, and x is less than three positive number.)

[0096]

[Formula 4]

$M_x(Si_4-xAl_x)$ Mg 3O₁₀X₂ ... (4)

(In a formula 4, M is any one of H, Li, Na, and K, X is OH or F, and x is less than four positive number.)

[0097]

[Formula 5] MSi₄Mg 2.5O₁₀X₂ ... (5)

(In a formula 5, M is either among Li and Na and Na preferably.) X is OH or F and is F preferably.

[0098]

[Formula 6] M₂Si₄Mg 2O₁₀X₂ ... (6)

(In a formula 6, M is either among Li and Na and Li preferably.) X is OH or F and is F preferably.

[0099]

[Formula 7] Mg₆aluminum₂(OH)₁₆X_x ... (7)

(In a formula 7, X is a halogen, NO₃, SO₄, CO₃, OH, or the anion form of an organic acid, and is CO₃ preferably.) x is 2 when X is the organic acid of a halogen, OH and NO₃, and monovalence, and when X is the organic acid of SO₄, CO₃, and bivalence, it is 1.

[0100]

[Formula 8]

Na_{0.33}Si₄ (Mg_{2.67}Li_{0.33})O₁₀X₂ ... (8)

(In a formula 8, X is OH or F and is OH preferably.)

[0101]

[Formula 9]

Naa-b(Si_{4-a}Ala) (Mg_{3-b}Alb) O₁₀X₂ ... (9)

(In a formula 9, X is OH or F and is OH preferably.) a is less than four positive number, b is less than three positive number, and it is a-b>0.

[0102] As an example of the stratified inorganic compound of this invention, a kaolinite, halloysite, 1:1 mold clay

minerals, such as serpentine; Talc, pyrophyllite, a smectite, a vermiculite (what is expressed with a formula 2 among the above-mentioned formula, and the following -- the same) -- A fluorine 4 silicon mica (formula 5) and a TENIO night (formula 6) 2:1 mold clay mineral [, such as an included mica,]; -- middle mineral [of 2:1:1 mold clay mineral; 2:1-2:1:1 molds, such as a chlorite,]; -- semi-crystalline clay mineral [, such as imogolite,]; -- an allophane etc. is amorphous -- clay mineral; hydrotalcite (formula 7); etc. is mentioned.

[0103] Moreover, 2 octahedron molds by which a montmorillonite (formula 1) and a montmorillonite are contained in a smectite 40 to 80% with the ion kind in the tetrahedron by which the isomorphism permutation was carried out, and an octahedron grid, such as a bentonite and beidellite (formula 2); 3 octahedron mold [, such as hectorite (formula 3, preferably formula 8), saponite (formula 4, preferably formula 9), and nontronite,]; etc. is contained.

[0104] In addition, hydrotalcites are the formula 7 in the above-mentioned formula, and a stratified mineral specifically expressed with $Mg_6Al_2(OH)_16CO_3$ and $4H_2O$. Although a part of Mg^{2+} of $Mg(OH)_2$ (brucite: it has the structure in which the layer of the oxygen octahedron which has Mg^{2+} in a core was piled up) carries out an isomorphism permutation at aluminum $^{3+}$ and it has positive charge, electrical neutrality is maintained by CO_3^{2-} between layers, and it has anion-exchange ability. Although it is not a silicate mineral, it is often dealt with as a clay mineral.

[0105] Some presentations are shown in the following table 1 among the stratified inorganic compounds of this invention mentioned above.

[0106]

[Table 1]

<Table 1> ----- A mineral name Presentation * ----- kaolinite
 (Kaolinite) $Si_2Al_2O_5(OH)_4$ Halloysite $Si_2Al_2O_5(OH)_4 \cdot 2H_2O$ Serpentine $Si_2(Mg^{2+}, Fe^{2+})_3O_5(OH)_4$ Talc (Talc) $Si_4Mg_3(OH)_2O_{10}$ Pyrophyllite (Pyrophyllite) $Si_4Al_2(OH)_2O_{10}$ A montmorillonite (Montmorillonite) $MIxSi_4(Al_{2-x}Mgx)O_{10}(OH)2H_2O$ beidellite (Beidellite) $MIx(Si_{4-x}Al_x)Al_2O_{10}(OH)2H_2O$ Hectorite (Hectorite) $MIxSi_4(Mg_{3-x}Li_x)O_{10}(OH, F)2H_2O$ Saponite (Saponite) $MIx(Si_{4-x}Al_x)Mg_3O_{10}(OH)2H_2O$ Nontronite (Nontronite) $MIx(Si_{4-x}Al_x)Fe_2O_{10}(OH)2H_2O$ Vermiculite (Vermiculite) $MIx(Si_{4-x}Al_x)Al_2O_{10}(OH)2H_2O$ Hydrotalcite (Hydrotalcite) $Mg_6Al_2(OH)_16CO_3$ and $4H_2O$ ----- * : MI Convertibility cation represented with the univalent cation

[0107] Especially limitation will not be carried out if the particle size of the stratified inorganic compound of this invention is a particle size small to extent which can perform uniform distribution. Moreover, since a stratified inorganic compound is in the dynamic balance to which it is generally a tabular particle and two or more particles repeat condensation and cleavage and it is difficult to define mean particle diameter itself, it is not easy to specify the range of desirable mean particle diameter, but if reference is made by force, the value measured by means, such as light scattering measurement and observation with an electron microscope, is in the condition distributed underwater, and 1nm or more 20 micrometers or less are desirable. Furthermore, 10nm or more thing 2 micrometers or less is desirable.

[0108] Moreover, it is thought that it sticks to these according to charges, such as coloring matter, or a polarity by having ion-exchange ability, and ion-exchange ability originates in the layer charge produced by the permutation of the metal ion which constitutes a layer. Then, as for the absolute value of a layer charge, it is desirable to have about 0.2 to one value about the atomic group of the presentation of a formula shown in Table 1.

[0109] moreover, transition-metals ion, such as iron, -- permutation ion -- carrying out -- the inside of structure -- or although how which the permutation by transition-metals ion twists is desirable since what is included as an impurity will be inferior to transparency etc. as a result of producing coloring by it, and showing a oxidation reduction property etc. and producing side reaction, it is not limited to this.

[0110] Pillars, such as quarternary ammonium salt, can be stood to stratified inorganic compounds, such as these clay minerals, and the distance between layers, the charge between layers, and a polarity can also be adjusted beforehand. A more desirable thing is a 2:1 mold clay mineral among the stratified inorganic compounds which this invention mentioned above, and especially a desirable thing is an expansive clay mineral which has ion-exchange ability. Moreover, still more desirable things are synthetic mica (a natural mica is usually a non-expansive clay mineral.), such as bloating tendency synthetic mica (or Na mold mica) represented with a bentonite, a smectite, a vermiculite, or a synthetic fluorine mica, among expansive clay minerals, and especially desirable things are synthetic smectites, such as synthetic hectorite or synthetic saponite, or a synthetic fluorine mica. These may be used independently or may use two or more sorts together.

[0111] In addition, as for a swelling operation, it is desirable to use the stratified inorganic compound of bloating tendency in order to adsorb coloring matter quickly on the front face of the stratified inorganic compound which originates in having the cation or anion of convertibility, and is called between layers or card house structure. A clay

mineral adsorbs the anionic matter, the cationic matter, and a nonionic polar organic compound, and a hydrotalcite adsorbs an anionic compound. The compound which can stick to a stratified inorganic compound is explained by Chapter 11 "Interaction of Claysand Organic Compounds" of the compendium written by H.Van Olphen "An Introduction to Clay Colloid Chemistry and SecondEdition" (Krieger Publishment, Malabar) etc. in full detail.

[0112] Although the stratified inorganic compound which this invention mentioned above can be used not only in a compost and a natural product, a compost is used preferably. It is because a compost can deal with quantitatively the coloring matter to which it was chemically uniform and stuck unlike a natural product, and it is highly transparent, so quantitative and optical handling is still more possible excluding colored metals, such as iron, between layers. In addition, "composition" means at least that by which it was mainly manufactured with a hydrothermal crystallization method or scorification in the case of the smectite here. The expansive clay mineral which refines a natural product and is obtained is also used preferably.

[0113] Some of such stratified inorganic compounds are marketed. For example, trade name Lucentite SWN or Lucentite SWF (synthetic hectorite) or ME (fluorine mica) by CO-OP CHEMICAL CO., LTD., Kunimine Industries trade name smecton SA (synthetic saponite) Trade name CHIKISOPIW (synthetic hectorite) or trade name KYO WORD 500 (synthetic hydrotalcite) made from Consonance Chemical industry, Trade name RAPONAITO made from RAPO (synthetic hectorite), the natural bentonite of Nakarai Tesuku Sale, the trade name multi-gel (bentonite) by Hojun Kogyo [Co., Ltd.] Co., Ltd., etc. are mentioned.

[0114] Adsorbing organic compounds, such as an amine, a polyene, and various coloring matter, is known, and the stratified inorganic compound mentioned above has been conventionally used as the protein remover at the time of manufacture of the chemical for water treatment and wine which adsorb an oil, coloring matter, etc., mirin, etc., a decolorization purification agent by impurity adsorption treatment, etc. Moreover, it is known as a material which gives a specific reaction place -- these stratified inorganic compounds produce the phenomenon called a metachromasy -- and raising the light stability of natural coloring matter is also further known for recently.

[0115] However, in this invention, it finds out that coloring matter etc. can control diffusion and that elution is carried out by the sample solution, reaction mixture, etc. by making detecting elements, such as a detection layer of the test piece for analysis, or a detection field, contain this stratified inorganic compound, and making it adsorb with the coloring matter generated by the reaction of a reagent. Thus, making a test piece contain using the effectiveness that a stratified inorganic compound controls diffusion and elution, such as coloring matter, is not tried until now.

[0116] Furthermore, a detection reaction is not blocked even if it adds said stratified inorganic compound in a reaction layer etc. at a surprising thing. Therefore, it can carry out simple more correctly [inspection / which used the system of reaction using said 4-AA and hydrogen donor etc. by addition of this stratified inorganic compound, for example], without caring about elution.

[0117] Although the part containing the stratified inorganic compound of the trial sections is a vesicular structure object preferably and especially the quality of the material is not limited, [whether it is formed mainly with the stratified inorganic compound, and] Mainly Or a hydrophilic polymer, a membrane filter, a filter paper and cloth, It is desirable to be formed with at least one sort of porosity formation materials chosen from the group which consists of impalpable powder of organic compounds, such as the fiber aggregates, such as a glass filter, a cellulose, or diatomaceous earth, or an inorganic compound, and a stratified inorganic compound.

[0118] As a vesicular structure object currently formed with the stratified inorganic compound, the sol of a stratified inorganic compound, gel, floc, an aggregate, or the porous body that dried or sintered them is mainly mentioned. The buffer mentioned later may be added on a vesicular structure object. For example, after dropping one drop of 1% dispersion liquid of a stratified inorganic compound on a base material and carrying out the cast, the good porous layer of absorptivity can be obtained by freeze-drying.

[0119] A base material may be a sheet-like or may be tubular or cylindrical, and especially the quality of the material may not be limited, but may be organic macromolecules [, such as plastics plates, such as particulate matters, such as powder, such as particulate matter; celluloses, such as fiber aggregate; glass beads, such as a filter paper, a nonwoven fabric, cloth, and a glass filter, a polymer bead, and a titanium dioxide, diatomaceous earth, fusibility salts, and hydrophobing polysaccharide, or impalpable powder; membrane filter; polyethylene terephthalate (PET), and polystyrene,]; etc. Furthermore, the gel which consists of a hydrophilic polymer preferably, the membrane filter which carried out hydrophilization processing of the front face, or a plastics plate is mentioned.

[0120] As a hydrophilic polymer, polyalkylene oxide; carboxymethyl celluloses, such as polyethylene oxide and polypropylene oxide, cellulosic [, such as hydroxyethyl cellulose,]; -- gelatin and its derivative; (for example, FUTARU-ized gelatin etc.) -- in addition to this -- polysaccharide and its derivative (agarose --) ; polyvinyl alcohol; polyvinyl pyrrolidones, such as Carrageenan, a chitin, and chitosan; polyacrylate (sodium polyacrylate etc.) And;, such

as a copolymer with those maleic acids Polyacrylamide; Polymethacrylic acid (Polyhydroxyethyl methacrylic acid etc.); -- meta-acrylamide; -- polysulfone; -- polyimide; -- polystyrene; -- polycarbonate; -- polyether ether ketone; -- polyoxymethylene; -- sodium alginate; -- hydrophilic processing was carried out -- (For example, hydrophilization was carried out by UV irradiation and silanol processing) A polymer including the chemical structures, such as polyolefine system resin [, such as polyethylene polypropylene, and poly fluoro ethylene,], a copolymer, a meeting object, etc. are mentioned.

[0121] Moreover, said hydrophilic polymer has the network structure by graft-izing by the cross linking agent, the meeting by canal-compatibility, etc., and its thing insoluble in water is desirable. As an example of such a hydrophilic polymer, the poly lysine over which the bridge was constructed by glutar DEHIDO, a polyethylene oxide bridge formation product, a polyacrylamide graft polymer, a polyacrylate graft polymer, a starch-acrylate graft polymer, etc. are mentioned.

[0122] Moreover, both the at least one sort of porosity formation materials and stratified inorganic compounds that are chosen from the group which consists of impalpable powder of a hydrophilic polymer, a membrane filter, the fiber aggregate and an organic compound, or an inorganic compound contain in the trial section, and may form said vesicular structure object. as the approach of making such a vesicular structure object forming -- beforehand -- the mixed liquor of a vesicular structure object formation material and a stratified inorganic compound -- preparing -- the above-mentioned base material -- the cast or the approach of infiltrating -- or porous base materials, such as porous membrane, are beforehand produced using the vesicular structure object formation material, and the cast or the approach of infiltrating is mentioned to the base material of the porosity in the dispersion liquid or said mixed liquor of a stratified inorganic compound.

[0123] When mixing a stratified inorganic compound at the time of manufacture of a vesicular structure object, there is the approach of kneading with a hydrophilic polymer, impalpable powder, etc., and producing a film to coincidence etc. Moreover, the buffer solution which made the buffer mentioned later dissolve or distribute a stratified inorganic compound can be dried, and this dry matter can also be mixed in a raw material.

[0124] Moreover, although especially the class of solvent which uses the dispersion liquid or the mixed liquor of a stratified inorganic compound in the case of the approach of infiltrating a porous base material is not limited but a well-known thing can be conventionally used for arbitration For example, ketones, such as alcohol, such as water, such as distilled water, and ethanol, and an acetone The thing suitable for the detection system of reaction to be used can be chosen from aromatic hydrocarbon, such as halogenated hydrocarbon, such as ester, such as ether, such as diethylether, and ethyl acetate, and chloroform, benzene, and toluene. It is good to infiltrate the buffer solution which used preferably the buffer mentioned later and the buffer was made to dissolve or distribute. The concentration of a solution or dispersion liquid can be suitably chosen according to the system of reaction etc., and is not limited especially.

[0125] Next, the production approach of of the layer or field containing a stratified inorganic compound is illustrated. When producing the layer or field containing a stratified inorganic compound, the vesicular structure object which dried or sintered the sol of said stratified inorganic compound, gel, floc, and an aggregate can be used. For example, after carrying out the cast of the one drop of 1% dispersion liquid of a stratified inorganic compound on a sheet plastic, the good porous layer of absorptivity can be obtained by freeze-drying.

[0126] Moreover, at least one sort of vesicular structure object formation materials chosen from the group which consists of the hydrophilic polymer mentioned above, a membrane filter, the fiber aggregate and organic, or non-subtlety powder can be used for production.

[0127] Especially as a hydrophilic polymer, gelatin, polyacrylic acid or its derivative, polyacrylamide, polyvinyl alcohol, a polyvinyl pyrrolidone, a polyethylene glycol, polysaccharide, or its derivative is desirable. A hydrophilic polymer may be used as a desiccation object of gel or gel. A hydrophilic polymer may be the gel which adjusted the degree of cross linking by addition of a known cross linking agent etc. It is independent, or these can be combined and used.

[0128] In order to acquire the vesicular structure object which compounded said material and stratified inorganic compound, the various methods of having already described the stratified inorganic compound in the approach which the trial section is made to contain can be used. For example, 1% dispersion liquid of the stratified inorganic compound which buffer solution was made to distribute can be infiltrated into a filter paper, and a porous field can be obtained by formula of carrying out warm air desiccation. Moreover, a porous layer can be obtained if the wafer of the filter paper is stuck on a sheet plastic. Moreover, for example, the procedure described below can be used. The tales doses of the water solution of the polyacrylamide of predetermined concentration prepared so that it might be set to 1:1 to 4:1 by the weight ratio at 3% dispersion liquid of a stratified inorganic compound are mixed, and it agitates with several sufficient hours. If required, by adding thin water solutions, such as a sodium carbonate or an acetic acid, pH of mixed liquor will

be adjusted in between [about five to 9]. Moreover, if required, mixed liquor will be made into alkalinity, an electron ray may be irradiated and crosslinking reaction may be made to cause in addition so that it may become 2% about N and N-methylenebis acrylamide. In this way, the obtained mixed liquor is applied on a plastic sheet, and porous membrane can be obtained if it is made to dry.

[0129] In this way, especially the vesicular structure object containing the produced stratified inorganic compound is excellent in absorptivity, and is preferably used as the trial section of a test piece. Of course, the example of production of the trial section is not necessarily restricted to the example described here. For example, the example of production of the trial section of various well-known test pieces is applicable. For example, H.G.Curme, et al., Clinical Chemistry, 24 (8), such a test piece 1335-1342 (1978), B.Walter, Analytical Chemistry, 55 (4), 498A (1983), Asaji Kondo "**** weir" 1984(7), 534, R.F.Zuk, et al., Clinical Chemistry, 31 (7), 1144-1150 (1985), Asaji Kondo "**** weir" 1986(6), 387 JP,2-6541,A (K.Hildenbrand), M.P.Allen, et al., Clinical Chemistry, 36 (9), 1591-1597 (1990), JP,3-163361,A (E.J.Kiser et al.), The 8th page (edited by Japan Society for Analytical Chemistry: the 4th edition of revision, Maruzen (1991)) of analytical chemistry handbook, D.Noble, Analytical Chemistry, 65 (23), It is indicated by reference, such as 1037A (1993), JP,5-157745,A (Hidehiko Manabe et al.), JP,6-213886,A (Masao Kitajima et al.), and JP,6-222061,A (H.Brandt et al.).

[0130] The concentration of the dispersion liquid of a stratified inorganic compound, a mixing ratio with a hydrophilic polymer, and the value of pH that should be adjusted should just choose the conditions for which it was suitable so that porous extent which makes a parameter the class of stratified inorganic compound, the class of coloring matter which it is going to make adsorb, the class of hydrophilic polymer to be used, the class of an amount and buffer, an amount, the viscosity of mixed liquor, etc., and needs them, the thickness of a porous layer, the mechanical strength of the trial section, etc. could be obtained.

[0131] This vesicular structure object can be used as the reaction section of a test piece by adding the reagent which reacts with the quality of an analysis object in a sample solution, and generates the detectable matter in the porosity structure produced as mentioned above.

[0132] Although the addition of a stratified inorganic compound is based also on the stratified inorganic compound which is determined according to the system of reaction to be used, and is used, its amount which there are too few adsorption sites, the quality of a product does not remain in the solution middle class, without adsorbing, or there are too many adsorption sites and the bias of concentration does not produce in adsorption of the quality of a product to the quality of a product is desirable.

[0133] The desirable amount of the stratified inorganic compound added to the system of reaction is determined as follows. That is, since a stratified inorganic compound mainly adsorbs the coloring matter of an amount according to extent of the above-mentioned layer charge etc., it can ask for the total number of adsorption sites to coloring matter etc. about various kinds of stratified inorganic compounds. Since near peaks, such as coloring matter which will be generated if the concentration of a reagent becomes settled in the detection system of reaction, are computable, as peaks, such as coloring matter which can generate the total number of adsorption sites of a stratified inorganic compound, do not exceed, they can add the suitable stratified inorganic compound of an amount.

[0134] The degree of adsorption is influenced by the presentations (component which forms pH, ionic strength, and a complex) of a buffer. For example, although the smectite which pure water was made to distribute cannot adsorb the food color blue No. (Brilliant Blue FCF) 1 easily, the smectite distributed in the bis-tris buffer solution [what prepared from bis(2-hydroxyethyl) imino tris (hydroxymethyl) methane and a hydrochloric acid] of pH6.5 adsorbs this coloring matter quickly.

[0135] Therefore, it can adjust to extent of desirable adsorption by changing a presentation, concentration, or pH of a buffer, or changing the addition of the compound which can compete with coloring matter etc. in adsorption to a stratified inorganic compound. As said compound which can compete, a metal ion, organic amines, carboxylic acids, phosphate, etc. are mentioned, and a surfactant, a fusibility polymer, etc. can be used.

[0136] Although phosphoric-acid buffer solution besides the bis-tris buffer solution mentioned above, for example, citric-acid buffer solution, N-(2-acetamide) iminodiacetic-acid buffer solution, etc. are mentioned, as for the class of the buffer and buffer solution which are used for this invention, it is desirable to choose suitably according to the system of reaction which it is not limited to these and used. Moreover, about pH of a buffer, and concentration, it is desirable to choose the conditions suitable for the system of reaction to be used.

[0137] Although not limited, it can be made to contain with a stratified inorganic compound as the dry matter, being able to use especially the addition approach of a buffer as the buffer solution which dissolves or distributed the stratified inorganic compound.

[0138] Moreover, although it may be in charge of manufacture of a test piece and condensation of translucent colloid

may arise in the dispersion liquid of a stratified inorganic compound, this floc is re-distributed to homogeneity by agitating dispersion liquid. Moreover, since the dispersibility of a stratified inorganic compound will improve if the buffer solution of a phosphate system is used when especially condensation is inconvenient, generating of condensation can be controlled.

[0139] Moreover, the trial section can also be made to contain various surfactants. By addition of a surface active agent, the engine performance which coats the trial section etc. on a base material improves. However, since a surfactant has an operation of sticking to an interface, distributing and dissolving the matter, it has a possibility of making the effectiveness of this invention spoil, by bringing about the dissolution of the detectable matter which competed with adsorption to the stratified inorganic compound of the generated detectable matter, or was generated. Therefore, it is desirable to choose what does not block adsorption with the detectable matter and detectable stratified inorganic compound which were generated as a surfactant used combining a stratified inorganic compound in this invention. Moreover, it is desirable to use the small quantity which is extent which such active jamming does not produce also about the amount of the surfactant used.

[0140] As a class of surfactant which does not block adsorption, it is not extremely large compared with the coloring matter which the molecular weight of a surfactant generates, and that with which the organic value and inorganic value of a surfactant are satisfied of the following formula is desirable.

[0141]

[Equation 1] (Inorganic value) = $(2.37 \times 0.23) \times (\text{organic value}) - 186.2 \times 117.1$ [0142] The above-mentioned formula considers the relation between the adsorption inhibition effectiveness, an inorganic value, and an organic value about the various surfactants of known structure, and is obtained. The inorganic value of 20 and a hydroxyl group for the organic value of a carbon piece Namely, the functional group which assigns 70 for the organic value of 60 and a nitro group, assigns [the organic value of 100 and polyethylene oxide / 30 and its inorganic value] the point for the inorganic value for every functional group or atom like in 70 etc., and constitutes a compound, If these points are totaled about an atom, total of an inorganic value and total of an organic value are taken and this inorganic value and organic value are plotted to rectangular coordinates, since the compound of the similar property will be positioned in the same field of rectangular coordinates It is known as an organic conceptual diagram that the common property by the structure of a compound will appear ("an organic conceptual-diagram-foundation and application -" Yoshio Koda, the 11th page, Sankyo Publishing (1984)). this invention persons consider the relation between the adsorption inhibition effectiveness, an inorganic value, and an organic value about many surfactants which have known structure, and find out that the class of surfactant which does not check adsorption satisfies the above-mentioned formula in an organic conceptual diagram. In addition, although the conversion data in the compendium about the above-mentioned organic conceptual diagram can be used for calculation of an inorganic value and an organic value, the above-mentioned formula (several 1) is obtained using the conversion data in the program "a personal computer organic conceptual diagram" (Chemical Software Society of Japan etc.) of Yoshio Homma production.

[0143] The class of surfactant which does not block adsorption, and selection of an addition can be carried out like the following (b) - (d).

[0144] (b) Make the reaction mixture containing smectite [of the specified quantity], 4-AA and N-ethyl-N-(2-hydroxy-3-sulfopropyl)-3, and 5-dimethoxy aniline add and color a hydrogen peroxide.

A surfactant is added so that it may become further predetermined concentration at the reaction mixture of the same presentation as (b) (b), and a hydrogen peroxide is made to add and color similarly.

(c) Suitable means, such as a natural sedimentation, centrifugal separation, and ** exception, separate a smectite, measure the color tone of a supernatant or a filtrate with a spectrophotometer etc., and measure the amount of adsorption of the generation coloring matter to the smectite in each of (b) and (b). Or when the condensation by adsorption is observed, it evaluates with extent of coagulation sedimentation.

(d) Choose the class and addition of the surfactant with which a difference is hardly seen in the time of adding with the time of not adding a surfactant.

[0145] As a class of desirable surfactant chosen by such approach Sugar alkyl ether, such as n-octyl-beta-D-glucopyranoside Sugar alkylthio ether, such as n-octyl-beta-D-thio glucopyranoside and n-heptyl-beta-D-thio glucopyranoside, Sugar amides, such as n-octanoyl-N-methyl glucamide and n-nonanoyl-N-methyl glucamide Sugar ester [, such as beta-D-hula KUTOPI llano sill-alpha-D-glucopyranoside mono-decanoate and beta-D-hula KUTOPI llano sill-alpha-D-glucopyranoside mono-decanoate,], N, and N-bis(3-D-guru KONAMIDO propyl) deoxy KORAMIDO etc. is mentioned.

[0146] Moreover, it is not limited especially as an addition and especially the rate of the addition to the stratified inorganic compound whole quantity is not necessarily limited, either. When carrying out the cast to a base material, it

is [that what is necessary is just to choose the amount suitable for the class of surfactant, the class of stratified inorganic compound, and the system of reaction] desirable to calculate experimentally the amount which is sufficient amount to demonstrate the fall effectiveness of boundary tension, and serves as the minimum. Moreover, an addition may be fluctuated in order to adjust the strength [inorganic compound / coloring matter etc. and / stratified] of adsorption. The class of surfactant added in order to adjust adsorption with coloring matter etc. and a stratified inorganic compound does not have involvement in the class of surfactant illustrated previously, and a well-known class can be suitably used so that it may be suitable for the system of reaction.

[0147]

[Example] Below, an example explains this invention concretely.

[0148]

[Example 1] They are 4-AA and N-ethyl-N as POD (peroxidase) and a coloring matter precursor. - (as 2-hydroxy-3-sulfopropyl -3, 5-dimethoxy aniline (it abbreviates to EHSDA hereafter.), and a buffer, the bis-tris buffer solution (pH6.5) was taken so that it might become as final concentration is Table 2, the hydrogen peroxide was added there, and coloring liquid was obtained.) Point arrival was carried out to the filter paper (No[by Toyo Roshi Kaisha, Ltd.]. 2) which it sank [filter paper] into 1% dispersion liquid (solvent: distilled water) of a stratified inorganic compound (a synthetic smectite: trade name Lucentite SWN, CO-OP CHEMICAL CO., LTD. make), and made them dry 30micro of obtained coloring liquid L, and the unsettled filter paper, and the situation of the diffusion was observed. Coloring liquid presupposed that it was permeated and spread circularly, and asked for the area of the spot which measured the maximum section and the minimum section of the diameter, and coloring matter diffused from the average.

[0149]

[Table 2]

<Table 2> ----- A reagent Final concentration ----- POD 1 U/mL 4-AA*1 2 mmol/L EHSDA*2 2 mmol/L Bis-tris buffer-solution *3 100 mmol/L Hydrogen peroxide 100micromol/L (whole-quantity 3mL)

*1 4-aminoantipyrine (4-amino -1, 2-dihydro - 1, 5-dimethyl - 2-phenyl-3H-PIRAZORU-3-ON)

*2N-ethyl-N-(2-hydroxy-3-sulfopropyl)-3, 5-dimethoxy aniline *3 bis(2-hydroxyethyl) imino tris (hydroxymethyl) methane

[0150] In addition, the used reagent is as being respectively shown in the following table 3.

[0151]

[Table 3]

<Table 3> ----- A reagent Reagent concentration A manufacturer Reagent purity ----- POD 30 U/mL Toyobo Co., Ltd. 4-AA 60 mmol/L Wako Pure Chem, Inc. Special grade chemical EHSDA 60 mmol/L SIGMA bis-tris 0.25 mmol/L Nakarai Tesuku, Inc. Specially Buffer solution Prepared Smectite 1% CO-OP CHEMICAL CO., LTD. hydrogen peroxide It is Study Industry 3 Dehua. Special grade chemical -----

[0152] The color tone of the obtained diameter, area, and a spot is shown in Table 4. Moreover, the mimetic diagram showing the appearance of the filter paper which coloring liquid diffused was shown in drawing 1 .

[0153]

[Table 4]

<表4>

	直径 (mm)	面積(mm ²)	色 調
スメクタイト含浸ろ紙 未処理のろ紙	7 ~ 8 2 0 ~ 2 2	4 4 3 5 0	青紫 青

[0154] Through the filter paper into which smectite dispersion liquid were infiltrated, diffusion of coloring matter was suppressed as compared with the unsettled filter paper, and the spot became small (it is about 1/8 in terms of area). However, the colorless part from which coloring matter was removed among coloring liquid was diffused to the same extent as an unsettled filter paper. It was confirmed that coloring matter adsorbed with the smectite in a filter paper alternatively from this.

[0155] Moreover, through the filter paper which sank into the smectite, that the color tone of the spot is deeper than an unsettled filter paper and having shifted to the short wavelength side of a color tone were observed visually. Furthermore, coloring matter was not eluted even if it rinsed the filter paper which sank into this smectite.

[0156] By adding a smectite in a filter paper showed that coloring matter is adsorbed on a filter paper, diffusion of coloring matter was prevented by this and elution was also prevented. Therefore, if the test piece by this invention is used, it turns out that the generated coloring matter can move, it cannot be eluted, but measuring accuracy and sensibility can be raised. Moreover, since there are no concentration and migration of coloring matter by desiccation of the trial section, and there is no elution of generation coloring matter even if it keeps a test piece attached in a sample solution, it turns out that it can measure simple.

[0157]

[Example 2] Urine test paper (the multi-item test paper which measures the nitrite in urine, grape sugar, occult blood, a bilirubin, and urobilinogen: with the commercial common test paper) Infiltrate each corresponding reagent into a filter paper, consider as the trial section, and it is immersed into the control urine which produced by the general formula what was stuck on plastic film with the trial section for proofreading. After leaving it for about 30 seconds until it pulled up immediately and coloration was observed, the same piece of a smectite sinking-in filter paper as what was used in the example 1 was forced on it, and coloring matter was moved to the piece of a smectite sinking-in filter paper. Visual observation of the blot of the coloring matter in filter paper Kataue was carried out. Moreover, the stream of tap water often washed this piece of a filter paper, and visual observation of the situation of decoloring was carried out.

[0158] Toyo Roshi No.2 which are not processed with a smectite as contrast -- and -- said -- same actuation was performed using two kinds of filter papers of No.131.

[0159] The measuring method of each trial and the formula are as follows. Moreover, a result is shown in the following table 5.

[0160] - Nitrite trial : make grease method 4-aminobenzeneearsonate react with the bottom of an acid condition, and a nitrite, make diazonium salt generate, carry out coupling to N-1-naphthyl ethylenediamine dihydrochloride, and make azo dye generate. As a formula, it sank in, 0.26mg of N-1-naphthyl ethylenediamine dihydrochloride and 0.57mg of 4-aminobenzeneearsonate were divided into 100, and one of them was made into the trial section at the filter paper of one sheet. The solution of about 6microl was absorbed by one sheet.

[0161] - Glucose trial : by the catalysis of a peroxidase, make the hydrogen peroxide generated by glucose oxidase react with a coloring indicator (the tetra-base and guaiac resin, respectively chromogen), and it carries out oxidation coloring. As a formula, it sank in, glucose oxidase 470IU, peroxidase 219PU, and tetra-base 13.0mg and 4.3mg of guaiac resin were divided into 100, and one of them was made into the trial section at the filter paper of one sheet. The solution of about 6microl was absorbed by one sheet.

[0162] - Occult blood test : it is an approach using oxidization coloring of the orthotolidine by decomposition of the cumene hydro peroxide by hemoglobin, and the oxygen of the activity term to generate, and the same effectiveness is expectable even if it uses benzidines (3, 3', 5, 5'-tetramethyl benzidine, etc.) instead of the orthotolidine. As a formula, it sank in, cumene hydro peroxide 52.6mg and orthotolidine 7.6mg were divided into 100, and one of them was made into the trial section at the filter paper of one sheet. The solution of about 6microl was absorbed by one sheet.

[0163] - Bilirubin trial : diazonium salt arose from the 2-methyl-5-nitroaniline or sulfanilic acid which is the diazo reagent, and the sodium nitrite under acid conditions, diazonium salt was an approach using the reaction which carries out coupling to the bottom bilirubin of existence of the dyphylline, and generates the azobilirubin, as a formula, it sank into the filter paper of one sheet, the amount was divided into 100 at it 2-methyl-5-nitroaniline 3.8mg, 2.1mg of sodium nitrites, and a little [dyphylline], and one of them was made into the trial section. The solution of about 6microl was absorbed by one sheet.

[0164] - urobilinogen trial: -- the bottom of acid conditions -- 3 and 3' - dimethoxy biphenyl -4 and 4' -- the reaction which carries out azo coupling to a - diazonium 4 boron-fluoride salt -- using -- as a formula -- the filter paper of one sheet -- 3 and 3' - dimethoxy biphenyl -4 and 4' -- it sank in, - diazonium 4 0.36mg fluoride of borates was divided into 100, and one of them was made into the trial section. The solution of about 6microl was absorbed by one sheet.

[0165]

[Table 5]

<表5>

試験	色素のにじみ			洗浄による色落ち		
	スメカタイト 含浸	未処理		スメカタイト 含浸	未処理	
		No.2	No.131		No.2	No.131
亜硝酸塩試験	○	×	×	○	×	×
グルコース試験	○	×	×	○	×	×
潜血試験	○	×	×	○	×	×
ビリルビン試験	○	×	×	○	×	×
ウロビリノーゲン試験	○	×	×	○	×	×

Blot of coloring matter ... O: Bleed and make. x: Bleed considerably and be. Decoloring by washing ... O: decoloring of is not done. x: They are quite those with decoloring [0166]. As shown in the result of Table 5, it stuck to the filter paper which sank in the stratified inorganic compound, without coloring matter bleeding, and it was not decolored by washing, either. Therefore, through the filter paper which sank in the stratified inorganic compound, it turned out that diffusion of coloring matter is controlled and elution is also prevented. Therefore, the generated coloring matter moves, or the test piece by this invention is not eluted, but can expect improvement in measuring accuracy and sensibility. Moreover, since there is [*****] no elution of generation coloring matter, there being no concentration and migration of coloring matter by desiccation of the trial section, and soaking a test piece into a sample solution, it can measure simple. Furthermore, since polluting the trial section which the generated coloring matter adjoins with a multi-item test piece is lost, it is possible to narrow the width of face between the trial sections, and to miniaturize a test piece.

[0167] Moreover, although it changed into a coloration condition which discoloration and fading were observed and is completely different from immediately after a reaction about one month after when air exposure was carried out at the room temperature, without shading generation coloring matter where an unsettled filter paper is infiltrated Even if the generation coloring matter by which the filter paper containing a stratified inorganic compound was adsorbed on the other hand carried out air exposure at the room temperature, without shading, change and fading were not seen for at least three months. [of a color tone]

[0168] The above fact shows the application of this invention -- the same measurement result as immediately after reaction coloration is obtained -- even when mailing a coloration finishing test piece to the inspection pin center, large of a remote place after extracting a sample in patient's home, for example and making it carry out reaction coloration on a test piece if the test piece of this invention is used. That is, the test piece of this invention has stable coloration, and since there is also no elution by concentration and a leak of the coloring matter by desiccation, it is available also as such a test piece for mailing.

[0169]

[Example 3] On the polyethylene terephthalate (PET) film which carried out ultraviolet treatment, coating of the solution prepared as shown in the following table 6 was carried out by 100 micrometers of thickness using the doctor knife, and it dried. This coating film was cut on every PET film 1cm square, it opened and faced across about 500-micrometer space like drawing 3 with glass, and the reaction cel was produced. The mimetic diagram of this reaction cel is shown in drawing 3.

[0170] Hydrogen-peroxide 2 mmol/L was added to this reaction cel, and the situation of coloring at that time was observed to it. Moreover, using the solution which a smectite was not added and also was prepared similarly, the reaction cel was produced similarly and the situation of coloring was observed.

[0171]

[Table 6] <Table 6> ----- A reagent Final concentration ----- POD 1 U/mL4-AA 2 mmol/LEHSDA 2 mmol/L bis-tris buffer solution 100 mmol/L smectite *1 0.3%HPC-M*2 1% ----- *1 Lucentite SWN(synthetic smectite: CO-OP CHEMICAL CO., LTD. make) *2 hydroxyethyl propyl cellulose [0172] By the smectite additive-free coating film, when a smectite was added to the elution of generation coloring matter having been observed out of the film, the elution of generation coloring matter was not observed.

[0173]

[Example 4] The example of the production formula of the test piece of this invention which has the detection layer of a vesicular structure object is shown. The mimetic diagram of this test piece is shown in drawing 4.

[0174] It was immersed in the reagent solution containing the enzymes GOD (glucose oxidase) and POD (peroxidase) which prepared it as the filter paper (the product made from Whatman, 2Chr) was shown in the following table 7, and was made to dry for 30 minutes at 40 degrees C. This filter paper was cut to 5mmx5mm, the double-sided tape was used and stuck on the end of the plastic film of 5mmx100mm white, and the test piece which makes said filter paper the trial section was produced.

[0175]

[Table 7] <Table 7> ----- A reagent Final concentration ----- GOD 100 U/mL POD 100 U/mL L4-AA 5 g/LEHSDA 3 g/L phosphate buffer solution (pH7.0) 0.1 mol/L smectite 1% ----- [0176] In this test piece, after immersing the piece of an exam in the urine which carried out point arrival of the 6microl of plasma to the trial section with the pipet, or was extracted in the cop and advancing a reaction, the reinforcement of coloring of a detection layer can be measured with a reflectometer etc., and the glucose concentration in plasma or urine can be measured. The layer of the vesicular structure containing the stratified inorganic compound in this invention can be used in the test piece of this example as a detection layer which served both as the sample inhalation layer, the reagent layer, and the reaction layer.

[0177]

[Example 5] The example of the production approach of a test piece of having the detection field of the vesicular structure of this invention is shown. The mimetic diagram of this test piece is shown in drawing 5.

[0178] It was immersed in the reagent solution containing the enzymes GOD (glucose oxidase) and POD (peroxidase) which prepared it as the filter paper (the product made from Whatman, 2Chr) was shown in the following table 8, and was made to dry for 30 minutes at 40 degrees C. This filter paper is cut to 5mmx5mm, and it joins to the position (reaction field of drawing 5) of 5mmx100mm another filter paper (the product made from Whatman, 2Chr) by sticking by pressure. Next, it is immersed in the dispersion liquid of the stratified inorganic compound prepared as shown in the following table 9, and a new filter paper (the product made from Whatman, 2Chr) is made to season naturally at a room temperature. This filter paper is cut to 5mmx5mm, and it joins to the position (maintenance field of drawing 5) of a 5mmx100mm filter paper (the product made from Whatman, 2Chr) which prepared the reaction field previously by sticking by pressure. In this way, the produced test piece is equipped with a sample inhalation field, the diffusion field, the reaction field, the maintenance field that adsorbs the detectable matter, and the field which absorbs an excessive sample, and the detection field is a maintenance field.

[0179]

[Table 8] <Table 8> ----- A reagent Final concentration ----- GOD 100 U/mL POD 200 U/mL L4-AA 5 g/LEHSDA 3 g/L phosphate buffer solution (pH7.0) 0.1mol/L ----- [0180]

[Table 9]

<Table 9> ----- A reagent Final concentration ----- Bis-tris buffer solution (pH6.5) 0.1 mol/L Smectite 1% ----- [0181] In this test piece, the sample inhalation field of the piece of an exam is immersed in the urine extracted in the plasma or the cop taken to the cuvette. A sample solution passes through a sample inhalation field and a diffusion field, it arrives at a reaction field and becomes reaction mixture which was mixed with the reagent and reacted, and a test piece is pulled up after passing through the field and maintenance field which adjust reaction time. The reinforcement of the coloration in a maintenance field is measured with a reflectometer etc., and the glucose concentration in plasma or urine is measured.

[0182] The vesicular structure containing the stratified inorganic compound by this invention can be used as a detection field which served as the maintenance field which adsorbs the matter (coloring matter) in which the detection in reaction mixture is possible in the test piece of this example.

[0183]

[Effect of the Invention] According to the test piece of this invention, coloring matter etc. is spread, and cannot be eluted easily and high sensitivity and the exact and simple analysis of it are attained more.

[Translation done.]

*** NOTICES ***

JPO and NCIPPI are not responsible for any
damages caused by the use of this translation.

1. This document has been translated by computer. So the translation may not reflect the original precisely.
- 2.**** shows the word which can not be translated.
3. In the drawings, any words are not translated.

DESCRIPTION OF DRAWINGS**[Brief Description of the Drawings]**

[Drawing 1] It is a mimetic diagram showing the diffusion condition of the coloring matter on the smectite sinking-in filter paper in the example 1 of this invention.

[Drawing 2] It is a mimetic diagram showing the diffusion condition of the coloring matter on the unsettled filter paper in the example 1 of this invention.

[Drawing 3] It is the mimetic diagram of the reaction cel in the example 3 of this invention.

[Drawing 4] It is the mimetic diagram of the test piece in the example 4 of this invention.

[Drawing 5] It is the mimetic diagram of the test piece in the example 5 of this invention.

[Description of Notations]

- 1 ... Spot of coloring matter
- 2 ... Coloring liquid with which coloring matter was removed
- 3 ... Glass
- 4 ... Coating film
- 5 ... PET
- 6 ... Filter paper into which the reagent was infiltrated (detection layer)
- 7 ... Double-sided tape (glue line)
- 8 ... Filter paper into which the dispersion liquid of a stratified inorganic compound were infiltrated
- 9 ... Filter paper into which the reagent was infiltrated
- 10 ... Filter paper
- 11 ... Sample inhalation field
- 12 ... Diffusion field
- 13 ... Reaction field
- 14 ... Field which adjusts reaction time
- 15 ... Maintenance field
- 16 ... Field which absorbs an excessive sample etc.

[Translation done.]

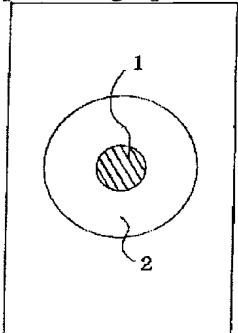
* NOTICES *

JPO and NCIPPI are not responsible for any damages caused by the use of this translation.

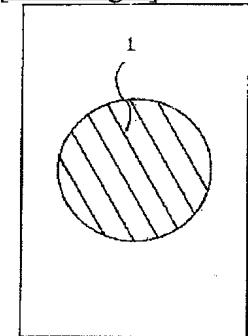
1. This document has been translated by computer. So the translation may not reflect the original precisely.
2. **** shows the word which can not be translated.
3. In the drawings, any words are not translated.

DRAWINGS

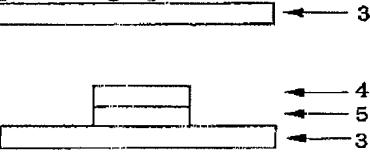
[Drawing 1]



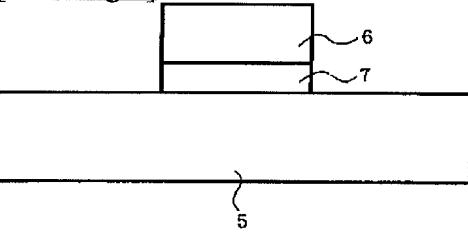
[Drawing 2]



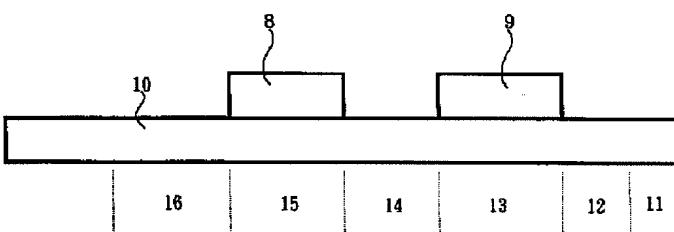
[Drawing 3]



[Drawing 4]



[Drawing 5]



[Translation done.]